

토끼 폐장 분리관류 모형에서 Low Potassium Dextran 용액에 Cyclic Adenosine Monophosphate와 Nitric Oxide의 첨가가 폐보존에 미치는 영향

조 덕 곤*·조 규 도*·김 영 두*·곽 문 섭*

=Abstract=

The Effects of Addition of Cyclic Adenosine Monophosphate and Nitric Oxide in Low Potassium Dextran Solution for Lung Preservation in an Isolated Rabbit Lung Perfusion Model.

Deog Gon Cho, M.D.*, Kyu Do Cho, M.D.*, Young Du Kim, M.D.*, Moon Sub Kwack, M.D.*

Background: During organ preservation and reperfusion, both cyclic adenosine monophosphate(cAMP) and nitric oxide(NO) play a central role in maintaining pulmonary vascular homeostasis. However, both cAMP and NO levels decline markedly during pulmonary ischemia and reperfusion. In this study we prepared a new solution in which a cAMP analog(dibutyryl cAMP, db-cAMP) and a nitric oxide donor(nitroglycerin, NTG) were added to the conventional low potassium dextran(LPD) solution. We investigated the effects of addition of cAMP and/or NO in LPD solution for lung preservation and compared the effectiveness of the solutions. **Material and Method:** Rabbit lung grafts(six per group) were studied in an isolated lung perfusion model. The heart-lung blocks were harvested after flushing in situ with only LPD solution(group I, n = 6), plus NTG(group II, n = 6), plus db-cAMP(group III, n = 6), or plus NTG and db-cAMP(group IV, n = 6), and were preserved at 10°C for 24 hours. The stored lungs were ventilated with 100% oxygen and reperfused with fresh venous blood at 38°C for 30 minutes. We assessed the lung functions and subsequent lung edema. Tumor necrosis factor α (TNF- α) and nitrite/nitrate(total NO production) levels were also measured. In addition, we evaluated histologic and ultrastructural changes of the reperfused lungs. **Result:** Although Group IV demonstrated the best lung preservation, the differences were not significant among group II, III and IV. Group I revealed the worst lung functions and severe pulmonary edema($p < 0.05$ versus all other groups). Although group II showed better lung preservation than in group III, the differences were not significant. TNF- α release was significantly reduced in group IV than in group I after reperfusion($p < 0.01$). NO levels were significantly increased in groups II and IV than in

*가톨릭대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

†본 논문은 1999년도 가톨릭대학교 성빈센트병원 임상연구비의 일부지원에 의해 이루어짐

논문접수일 : 2000년 10월 31일 심사통과일 : 2000년 1월 19일

책임저자 : 조덕곤(442-723) 경기 수원시 팔달구 지동 93번지, 가톨릭대학교 성빈센트병원 흉부외과. (Tel) 031-249-7200, (Fax) 031-251-1755

E-mail: ebstein8@hitel.net

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

groups I and III after reperfusion($p < 0.001$). However, there were no significant differences between groups I and III or between groups II and IV. NO levels decreased gradually in groups I and III($p < 0.05$). Histologic and ultrastructural studies showed better preservation of the alveolar-capillary barrier in groups II, III and IV than in group I. **Conclusion:** This study demonstrate that both of db-cAMP and NTG had beneficial effects on lung preservation with LPD solution, and there was no difference in the effect of each component. Especially, we expect that combined supplementation of db-cAMP and NTG will preserve better vascular homeostasis and minimize reperfusion injury after ischemic cold storage.

(Korean Thorac Cardiovasc Surg 2001;34:212-23)

Key words: 1. Lung preservation
2. Reperfusion injury

서 론

폐이식 수술은 말기 폐질환에 대한 궁극적인 치료방법으로 1983년에 세계에서 처음으로 일측 폐이식 수술환자의 장기생존을 보고한 이후 많은 폐이식 및 심폐이식 수술이 시행되어 왔으나, 세계적으로 아직도 타 장기이식에 비해 폐이식의 수적인 증가는 한계에 다다르고 있다¹⁾. 이는 공여폐의 절대적인 부족이 원인으로 이를 극복하기 위해서 폐보존시간을 연장하기 위한 여러 가지 폐보존액이 개발되었다. 현재 폐보존을 위해 실험적으로나 임상적으로 가장 흔히 사용되는 폐보존액은 기본적으로 세포내액의 조성파 같은 높은 칼륨 농도를 주성분으로 하는 Euro-Collins(EC)용액과 University of Wisconsin(UW)용액 등이 있으며, 고농도의 칼륨을 함유한 세포내액형 용액의 단점을 보완하기 위해 새로 개발된 세포외액형 용액인 low potassium dextran(LPД)용액과 extracellular Trehalose-Kyoto(ET-Kyoto)용액 등이 동물실험을 통해 그 효과가 입증되었다²⁾. 또한 최근에는 기존 폐보존액에 각종 약제를 추가함으로써 이식폐의 허혈-재관류 손상을 감소시키려는 연구가 활발히 시행되고 있다.

폐는 타장기와 달리 미세한 폐포와 모세혈관의 망구조로 이루어져 있기 때문에 폐를 적출, 보존하고 이식하는 과정동안 이식폐 안의 모든 세포들은 허혈-재관류 손상에 더욱 민감하게 반응한다. 이러한 과정에서 폐혈관 내피세포에서 항상성의 유지는 성공적인 폐보존 및 이식을 위해 특히 중요하다³⁾. cyclic adenosine monophosphate(cAMP)와 cyclic guanosine monophosphate(cGMP)는 폐혈관의 항상성을 유지하기 위한 중요한 신호전달물질로 혈관 내피세포에 백혈구 침착을 예방하고 내피벽 방어능력(endothelial barrier function)유지 및 강력한 혈관확장작용을 하며, 혈소판 활성을 억제하여 혈전

생성을 방지한다⁴⁾. 이러한 cAMP와 guanylate cyclase의 활성화를 유발하여 cGMP의 양을 증가시키는 nitric oxide(NO)의 양이 허혈폐의 재관류 동안 현저히 감소하기 때문에 폐이식 과정에서 재관류 손상으로 인하여 일차적인 거부반응에 관여하는 중요한 이유가 된다⁵⁾. 또한, nitroglycerin(NTG)과 dibutyl cAMP(db-cAMP)가 NO나 cAMP의 양을 증가시킴으로써 허혈-재관류 동안 이식폐의 혈관 항상성을 유지한다는 많은 보고가 있다^{3,6,7)}.

이에 저자들은 토끼의 폐쇄폐장 분리관류 모형을 이용하여 cAMP의 유사체인 db-cAMP와 NO의 공급원인 NTG를 폐보존액 가운데 가장 낮은 농도의 칼륨(4 mmol/L)이 함유되어 있는 LPD 세포외액형 폐보존액에 단독 혹은 복합적으로 추가함으로써 이들이 폐보존에 미치는 영향을 관찰해 보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

실험동물은 암수 구별 없이 3.0 kg 전후의 뉴질랜드산 흰 토끼를 사용하였다. 각각 6마리씩 4개의 실험군으로 I 군은 LPD 폐보존액만 사용한 경우, II 군은 LPD 용액에 NTG를 첨가한 경우, III 군은 LPD 용액에 db-cAMP를 첨가한 경우 그리고 IV 군은 LPD 용액에 NTG와 db-cAMP를 동시에 병합 사용한 경우로 분류하였다. 한 개체의 실험에서는 분리관류 모형을 순환시키기 위하여 2마리의 토끼를 채혈용으로 사용하였다.

2. 연구 방법

(1) 폐보존액 준비

Table 1. Composition of low potassium dextran(LPD) solution

Na+	168 mmol/L
K+	4 mmol/L
Cl ⁻	103 mmol/L
HCO ₃ ⁻	0 mmol/L
Mg ²⁺	2 mmol/L
PO ₄	37 mmol/L
pH	7.45
Osmolarity	280-290 mOsm/L
Dextran 40	20 gm/L

실험에 사용한 LPD 폐보존액은 Keshavjee 등⁸⁾이 제작한 방법으로 본 병원 임상의학 연구소에서 자체 제작하고 성분을 확인하였다(Table 1). LPD 용액에 첨가하는 약제로서 NTG(니트로, 명문제약, 한국)는 0.1 mg/mL 농도로 사용했고, db-cAMP(Dibutyryl adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate sodium salt, Alexis Biochemicals Co., U.S.A.)는 영하 20°C에서 분말상태로 보관하다가 100% 에탄올로 용해시켜 2 mmol/L 농도로 희석하여 사용하였다^{3,7)}.

(2) 심폐블록 (heart-lung block)의 적출

토끼를 ketamine hydrochloride(35 mg/kg)와 sodium thiopental (25 mg/kg)로 마취시키고 경부 기관절개술을 통해 내경 3 mm의 기관내도관을 삽입하였으며, 인공호흡기(Rodent respirator, Harvard Apparatus, U.S.A.)를 산소농도 100%, 일회 호흡량 10 ml/kg, 분당 호흡수 30회로 맞춰 작동시켰다. 정중흉골절개술을 통해 상, 하대정맥과 상행 대동맥 및 주폐동맥을 박리한 후 우심실 유출로를 통해 체중 kg당 1000 units의 헤파린을 주입하고 14 Fr의 폐동맥 도관을 삽입하였으며 폐보존액 주입장치를 연결하였다. 양측 대정맥을 절찰하고 동시에 폐동맥 도관주위로 절찰하여 허혈을 유도하고 좌, 우심방이와 상행대동맥을 절개하여 좌우 심실내 혈액을 배액시켰다. 이와 동시에 항온냉장고에서 10°C로 보관하여 준비한 폐보존액을 4 군에서 모두 30 cmH₂O의 일정한 압력으로 70 ml/kg의 양을 각각 관류시켰으며 동시에 폐보존액 주입시간을 측정하였다. 폐보존액을 다 주입한 후 절개한 우심방이는 단순 절찰하고 상, 하대정맥과 상행대동맥을 분리 절단한 뒤 폐를 조심스럽게 박리하여 심폐블록을 완전히 적출하였다. 이러한 일련의 조작 중에도 인공 호흡기를 통한 연속호흡은 계속하였고 폐표면의 손상 또는 폐실질 조직에 대한 압력이나 자극을 피하도록 조심하였다. 메어넨 심폐블록을 여러번 팽창시켜 허탈된 폐부분이 없도록 하고 심폐블록을 생리식염수에 담가 폐 표면으로부터 공기누출 여부를 확인하였다. 그리

고 흡기말 폐가 최대로 팽창된 상태에서 기관을 겹자로 잡고 인공 호흡기를 제거하였다.

(3) 심폐블록의 저장

심폐블록을 각각 폐관류시 사용한 용액과 동일한 10°C의 폐보존액이 들어있는 지퍼가 달린 비닐백에 넣고 밀봉한 후 생리식염수가 채워진 통속에 넣어 공기가 차단된 상태로 10°C 항온기에 24시간 동안 보관하였다.

(4) 폐장 분리관류 모형의 설치

1) 관류혈액 채취: 재관류 직전에 암수 구별 없이 무게 3.5 kg 전후의 채혈용 토끼 2마리로부터 약 250~300 cc의 혈액을 채취하였다. 혈액채취 과정은 실내가스환기 상태로 심폐블록 채취 때와 같은 인공호흡 조건하에 정중 흉골하부 부분절개를 통해 심장을 노출시키고 우심실 유출로를 통해 체중 kg당 1000 units의 헤파린을 주입한 후 우심실에 직접 수혈백의 바늘을 삽입하여 혈액을 흡입 채취하였다. 준비된 채취혈액을 분리관류 회로에 충전하고 관류할 때에는 충전혈액을 38°C로 미리 가온하여 유지시켰다.

2) 분리관류 모형: Wisser 등⁹⁾과 성숙환 등¹⁰⁾의 모델을 변형하여 자체 제작하였다(Fig. 1). 심폐블록은 항온순환수조(water bath circulator, Jeio Tech Co., LTD., Korea)에서 가열된 물이 순환되는 인공 심폐기용 저혈조(Venous reservoir, Cobe[®] CML, USA)를 개조한 플라스틱 통안에 고정하고, 실험 동안 통속 온도가 38°C 정도로 항온 항습이 유지될 수 있도록 하였다. 인공 호흡기를 기관내도관과 연결하고 기도압력 측정장치(Fukuda Densh Co., LTD., Japan)에 연결하였고, 폐동맥도관 및 좌심방 도관은 혈액순환펌프(hemodialysis blood pump, Renal System Inc., U.S.A.)에 부착시킨 튜브와 연결하였다. 다음에 폐동맥 유입로 직전에 폐동맥 압력측정장치를 연결하여 실험기간 동안 연속적으로 폐동맥압의 변화를 측정할 수 있게 하였다.

폐환기 상태에서 지속적인 재관류는 완전한 산소포화도 상태를 유지하기 때문에 산소화 능력(oxygenation capacity)의 측정만으로 관류폐의 기능을 정확히 평가할 수 없다. 그러므로 이를 해결하기 위해 폐동맥으로 유입되는 혈액을 탈산소화(deoxygenation)시키기 위하여 소형 막형산화기(membrane oxygenator, Capiox 308, Terumo Co., Japan)를 사용하였다. 또한 재관류 도중 미세 색전증을 예방하기 위해 필터(Capiox CX*AFO2 arterial filter for pediatric, Terumo Co., Japan)를 탈산화기 원위부에 설치하였다. 탈산화기에는 질소 95%, 이산화탄소 5%가 혼합된 가스를 통과시켜 폐장블록에서 산소화된 혈액을 탈산소화 시켰다.

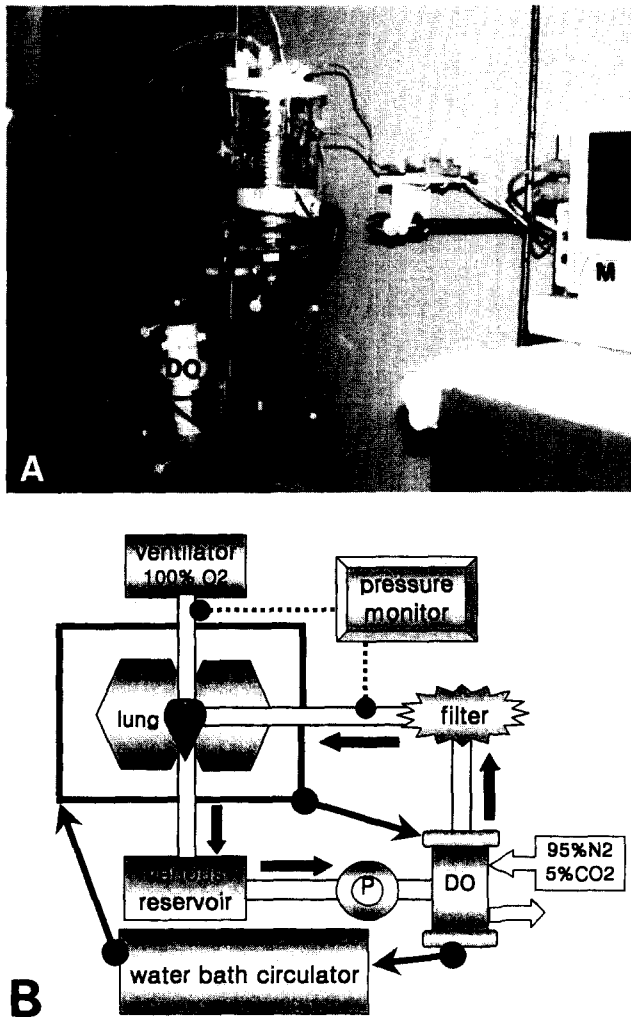


Fig. 1. A. Isolated lung perfusion model. B. Diagram of experimental apparatus.
V, Ventilator; M, Monitor; P, Roller Pump; DO, Deoxygenator

(5) 재관류 및 폐기능 평가

10℃ 항온기에서 24시간 동안 보관하였던 심폐블록은 상온의 생리식염수 용액에 비닐백 채로 담겨 온도를 서서히 상승시켰다. 그리고 좌심방에 도관을 삽입하여 재관류시 폐순환 혈액이 재배출 되도록 하였고 폐정맥혈 채취용 관류관을 연결하였다. 회색하지 않은 상태로 약 38℃로 가온하여 준비된 신선 정맥혈액으로 충전된 재관류관에 심폐블록의 폐혈관 순환용 도관들을 연결하였다. 심폐블록의 기관내도관을 인공호흡기에 연결하여 고정시키고, 먼저 저혈조(blood reservoir)로부터 기본적인 혈액분석용 혈액을 채취한 후 기관지 검자를 풀고 100% 산소로 일회 호흡량 15 ml/kg, 호흡수 분당 30회로 인공호흡을 시키면서 30분동안 재관류를 하였다. 혈액 순환펌프의 관류속도는 물리적인 관류손상을 예방하기 위해 급격하게 올리지 않고 5분간에 걸쳐 20 ml/kg/min

에 도달하도록 서서히 상승시켰다. 이때 항온순환수조를 가동하여 심폐블록이 들어있는 통 속과 폐순환 혈액의 온도를 38℃가 유지되도록 하였다.

폐기능의 측정은 재관류 직후 5, 10, 20, 30분에 좌심방 유출로부터 동맥혈을 채취하여 가스분석기(Cibacoringdiagnostics Co., U.S.A.)로 산소분압을 측정하였고, 그때 그때마다의 평균 폐동맥압과 흡기말 기도내압을 측정하였다.

재관류가 끝난 후에는 심폐블록을 조심스럽게 기구로부터 분리하여 심장과 폐 이외 조직은 절제해 내고 혈액을 3분 동안 배액시킨 후 양쪽 폐장만으로 습윤중량을 측정하였다. 폐부중 정도의 지표인 습윤중량과 건조중량의 비율(wet/dry weight ratio)을 측정하기 위해 떼어낸 폐는 액화질소 탱크에 넣어 순간 냉동 동결하여 영하 70℃로 냉동 보관하였으며, 건조중량은 고온 건조기에 폐장을 넣고 80℃에서 24시간 동안 건조시킨 다음 건조중량을 측정(Mettler AT201, Switzerland)하였다.

(6) tumor necrosis factor α (TNF- α) 측정

재관류 0, 10, 30분에 좌심방 유출로에서 2~3 cc씩 혈액을 채취하여 10분 이내에 2000 rpm 에서 10분 동안 원심분리한 뒤 혈장을 채취하여 영하 70℃에 급속 냉동저장 하였다. TNF- α 의 정량분석은 goat anti-rabbit TNF- α polyclonal antibody(PharMingen, U.S.A.)를 이용한 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)로 중복 측정하였다.

(7) 혈장내 nitrite 및 nitrate 농도 측정(총 nitric oxide 대사량)

재관류 0, 10, 30분에 좌심방 유출로에서 2~3 cc씩 혈액을 채취하여 10분 이내에 2000 rpm에서 10분 동안 원심분리한 뒤 혈장을 채취하여 영하 70℃에 급속 냉동 저장하였다. 재관류 과정에서 혈장안에 함유된 총 NO의 양은 NO의 안정된 대사물질인 nitrite와 nitrate을 측정함으로써 알 수 있는데, 상품화된 nitrite/nitrate colorimetric assay kit(LDH method) (Alexis Biochemicals Co., U.S.A.)를 이용하여 중복 측정하였다.

(8) 병리조직 검사

1) 광학현미경 검사

재관류가 끝난 30분 후 우중엽의 중간부위에서 채취한 폐조직을 포르말린으로 고정한 후 5 μ m 두께의 조직절편을 얻어 hematoxylin-eosin 염색을 시행하였다.

2) 전자현미경 검사

재관류가 끝난 후 우중엽의 중간부위에서 폐조직을 채취하여 2% glutaraldehyde phosphate 완충용액(pH 7.2)에 넣어 4℃에서 2시간 동안 고정하고 완충액으로 세척 후 1%

Table 2. Comparison of body weight and flushing time

	Group I (n=6)	Group II (n=6)	Group III (n=6)	Group IV (n=6)
Weight(kg)	3.05±0.02	2.97±0.02	3.12±0.03	3.03±0.08
Flushing time (seconds)	285.0±7.4	274.5±8.1	277.0±9.8	266.8±6.2

Table 3. Results of lung function and lung edema after 30 minutes of reperfusion (mean ± SE)

	PaO ₂ (mmHg)	PAP(mmHg)	AWP(mmHg)	W/D ratio
Group I	248.3±13.9	39.7±1.2	12.5±0.5	8.1±0.2
Group II	419.7±20.4	27.5±1.9	7.0±0.8	5.8±0.4
Group III	380.7±22.1	28.0±2.3	7.8±0.6	6.1±0.5
Group IV	425.3±17.9	23.3±0.8	6.0±0.5	4.8±0.2

PaO₂, Oxygen tension of effluent of left atrium; PAP, Mean pulmonary artery pressure; AWP, Peak airway pressure; W/D ratio, Wet/Dry weight ratio

osmium tetroxide로 후고정하였다. LKB microtome을 이용하여 70 nm 두께의 조직절편을 만들어 uranyl acetate 및 lead citrate 로 이중 염색한 후 투과전자현미경(transmission electron-microscope, JEOL-100B, Japan)으로 폐포세포 및 폐혈관 내피 세포를 관찰하였다.

(9) 통계처리

측정치는 평균±표준오차(mean±SE)로 나타내었고, SPSS 9.0 for Windows 통계 프로그램을 이용하여 통계처리하였다. 각 군과 시간차에 따른 측정치의 비교는 ANOVA와 Student's t-test로 분석하였으며, Scheff test로 검정하였다. 통계학적 유의 수준은 0.05 미만(P<0.05)으로 하였다.

결 과

1. 실험군 구성

각 실험군간 토끼들의 평균체중 및 폐보존액 주입시간에 유의한 차이는 없었다(Table 2).

2. 폐기능 평가

각 군에서 30분간 재관류 후 폐기능과 폐부종의 결과는 Table 3과 같다.

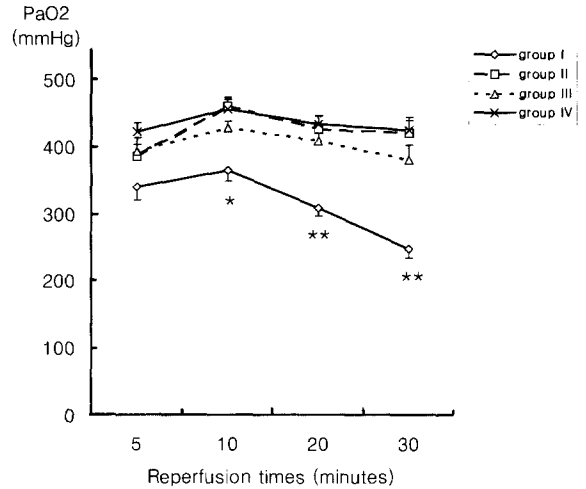


Fig. 2. PaO₂ values(mean±SE) during reperfusion. (* P<0.05, (** P<0.01 vs. all other groups. PaO₂ means oxygen tension of effluent blood.

(1) 재관류 혈액의 산소분압

재관류 30분 후 유출 폐정맥혈의 평균 산소분압은 I 군이 248.3±13.9 mmHg 로 II 군 419.7±20.4 mmHg, III 군 380.7±22.1 mmHg, IV 군 425.3±17.9 mmHg 보다 유의하게 낮았으며(P<0.01), II, III, IV 군들 사이 산소분압의 비교에서는 IV 군이 가장 높았고, III 군이 가장 낮은 소견을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 3). 또한, 재관류 5, 10, 20분에 측정 비교한 각각의 산소분압도 I 군이 나머지 세 군(II, III, IV)들에 비해 유의하게 낮았으나, 세 군들 사이에는 유의한 차이가 없었다(Fig. 2).

(2) 폐동맥압의 변화

폐동맥압은 재관류 30분 후 각각 II, III, IV 군이 27.5±1.9 mmHg, 28.0±2.3 mmHg, 23.3±0.8 mmHg로 I 군의 39.7±1.2 mmHg 보다 유의하게 낮은 소견을 보였고(P<0.05) (Table 3), 또한 재관류 10, 20분 후의 경우에도 유의한 차이가 있었다(P<0.05). 모든 군에서 재관류 10분까지 압력이 전반적으로 감소하는 양상을 보이다가 그 후로부터 IV 군은 비교적 일정한 압력을 유지하였으나 I, II, III 군은 압력이 지속적으로 상승하는 양상을 나타내었다(Fig. 3).

(3) 흡기말 기도내압의 변화

기도내압의 변화는 I 군은 재관류를 시작할 때부터 지속적으로 높아지는 양상을 보였으나, 다른 세 군들은 비교적 일정한 기도내압을 유지하였다. 재관류 30분 후 II, III, IV 군이 각각 7.0±0.8 mmHg, 7.8±0.6 mmHg, 6.0±0.5 mmHg로 I 군

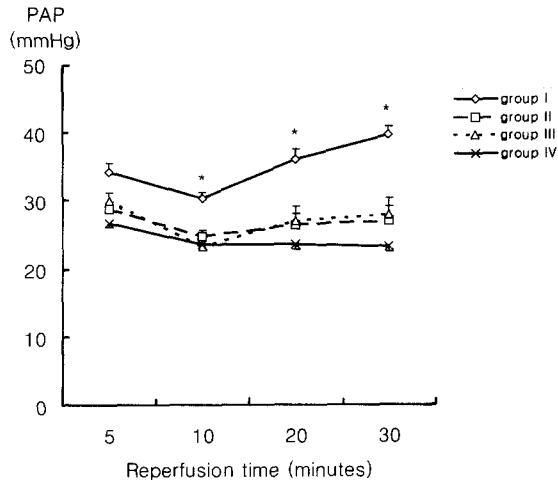


Fig. 3. Mean pulmonary artery pressure(PAP) (mean±SE) during reperfusion. (*) P<0.05 vs. all other groups.

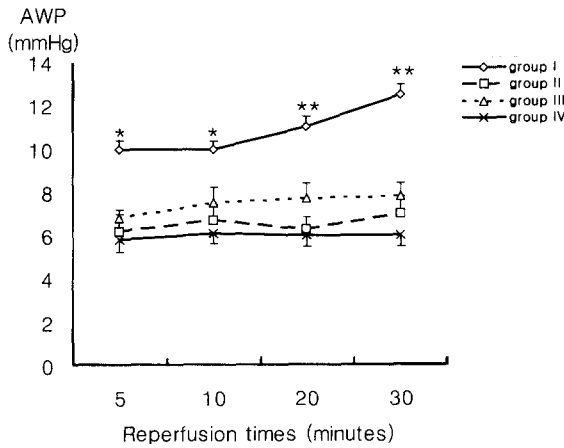


Fig. 4. Peak air way pressure(AWP) (mean±SE) during reperfusion. (*) P<0.05; (**) P<0.01 vs. all other groups.

의 12.5 ± 0.5 mmHg 보다 유의하게 낮은 소견을 보였으며 (P<0.01) (Table 3), II, III, IV 군의 비교에서 IV 군의 기도내 압이 가장 낮았고, III 군의 경우 압력이 전반적으로 높았으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Fig. 4).

3. 습윤중량과 건조중량의 비율

재관류폐의 기능저하가 폐부종으로 나타나며 이는 폐조직의 수분함량을 측정함으로써 계량화할 수 있다. 재관류 30분 후 II, III, IV 군이 각각 5.8 ± 0.4 , 6.1 ± 0.5 , 4.8 ± 0.2 로 I 군의 8.1 ± 0.2 보다 유의하게 낮은 소견을 보였으며(P<0.01) (Table 3), II, III, IV 군의 비교에서 IV 군이 가장 낮았고 III 군이

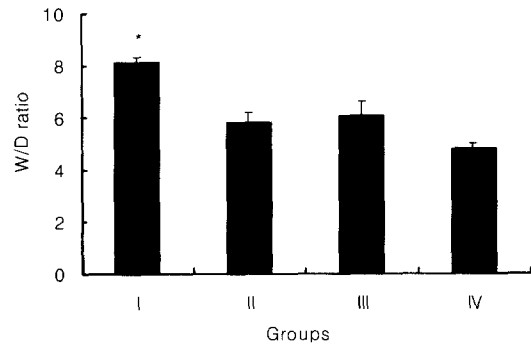


Fig. 5. Wet / Dry(W/D) weight ratio(mean±SE) after 30 minutes of reperfusion. (*) P<0.01 vs. all other groups.

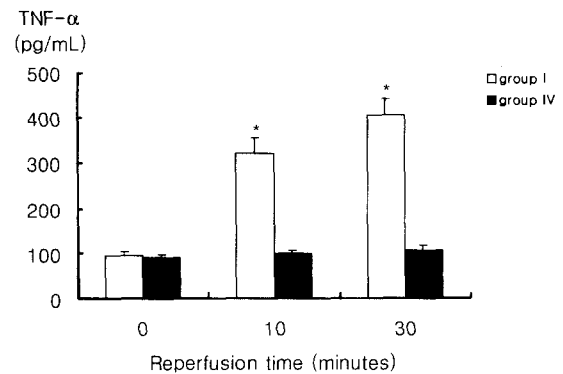


Fig. 6. Tumor necrosis factor α (TNF- α) level(mean±SE) in the effluent blood during reperfusion. (*) P<0.01 vs. group IV.

가장 높은 소견을 보였으나 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Fig. 5).

4. tumor necrosis factor α (TNF- α) 의 측정

재관류 0, 10, 30분 후 proinflammatory cytokine의 일종인 TNF- α 의 분비량을 유출혈액 내에서 측정하였는데, IV 군이 10분에 98.6 ± 6.8 pg/mL, 30분에 107.2 ± 10.2 pg/mL로 재관류 이전의 91.0 ± 7.1 pg/mL에 비해 아주 경미하게 증가되었으나, I 군의 경우에는 재관류 시간이 경과함에 따라 즉, 10분에 321.8 ± 34.0 pg/mL, 30분에 405.8 ± 36.3 pg/mL으로 IV 군에 비해 분비량이 급격히 증가하였다(P<0.01) (Fig. 6).

5. 혈장내 nitrite 및 nitrate 총 농도의 측정

재관류시 NO의 총량을 간접적으로 알기 위해 NO의 안정적인 최종 대사물질인 nitrite와 nitrate를 측정하였다. 재관류 30분 후 II 군이 13.9 ± 1.2 μ M, IV 군이 14.9 ± 1.6 μ M로 I

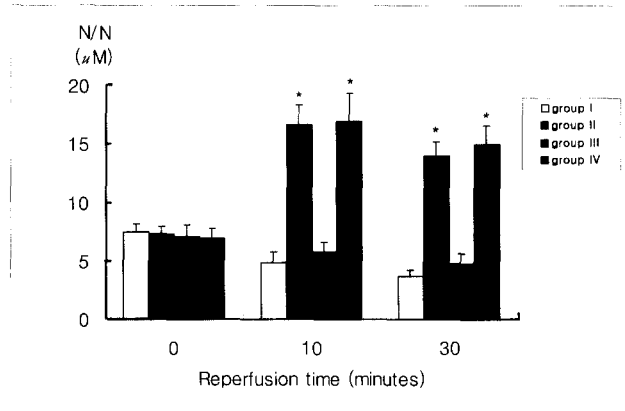


Fig. 7. Nitrite/Nitrate level(mean±SE) during reperfusion. (*) P<0.001 vs. group I, III. N/N means Nitrite / Nitrate concentration

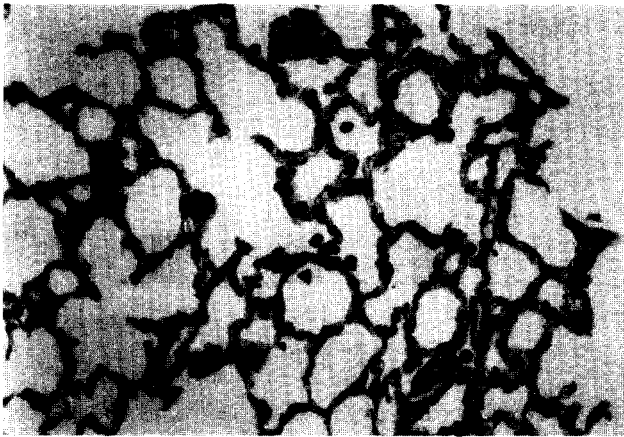


Fig. 8. Light microscopic appearance of ischemic rabbit lung parenchyma after 30 minutes of reperfusion in group IV(H & E staining, x100). Nearly normal appearance of alveolar structures except minimal interstitial inflammatory cell infiltration.

군의 $3.7 \pm 0.5 \mu\text{M}$, III 군의 $4.8 \pm 0.8 \mu\text{M}$ 에 비해 통계적으로 유의하게 높았고, 재관류 10분에 측정된 값에도 유의한 차이가 있었다(P<0.001). 그러나 재관류 10분과 30분 후 II 군과 IV 군의 비교 및 I 군과 III 군의 비교에서는 유의한 차이를 보이지 않았다. I 군과 III 군 모두 재관류 이전의 $7.5 \pm 0.7 \mu\text{M}$, $7.1 \pm 0.9 \mu\text{M}$ 에서 관류시간이 점차 경과함에 따라 재관류 30분 후에는 통계적으로 유의하게 NO의 양이 감소하였으며(P<0.05), NTG를 첨가한 폐보존액으로 관류한 II 군과 IV 군에서는 재관류 이전의 $7.3 \pm 0.7 \mu\text{M}$, $6.9 \pm 0.8 \mu\text{M}$ 에서 재관류 후 현저히 NO의 양이 증가되었고, 재관류 10분에 비해 30분에 측정된 NO의 양은 모두 감소하였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Fig. 7).

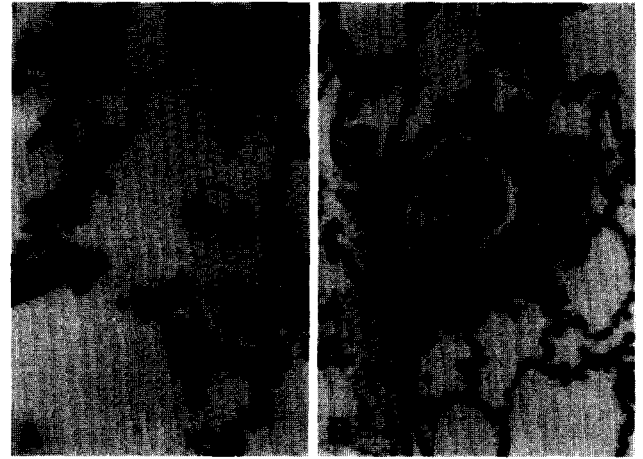


Fig. 9. Light microscopic appearance of ischemic rabbit lung parenchyma after 30 minutes of reperfusion in group I(H & E staining, x100). A. Intraalveolar, interstitial hemorrhage(open arrow), and a few mononuclear cell infiltrations in the alveolar septa(closed arrow). B. Severe perivascular inflammatory cell infiltrations(arrow head) and capillary congestion in the interstitium.

6. 병리조직 검사

(1) 광학현미경 검사

IV 군의 광학현미경 소견상 비교적 경미한 염증세포 침윤 이외에는 거의 정상적인 폐포 및 혈관 구조를 보였다(Fig. 8). II 군과 III 군도 역시 IV 군과 비슷하게 경미한 염증세포 침윤과 간헐적인 폐포내 삼출소견을 보였으나 정상적인 폐포 구조를 유지하였다. 그러나 I 군은 폐포 및 간질 내로의 심한 출혈소견이 있었으며, 폐혈관 주위 및 간질에 염증성 세포(단핵구)의 침윤이 심하고 폐포의 정상적인 구조가 파괴된 소견을 보였다(Fig. 9-A & B).

(2) 전자현미경 검사

투과전자현미경 소견상 NTG나 db-cAMP를 사용한 군에서는 혈관 내피세포접합부나 폐포세포들 사이의 접합부와 기저막이 거의 잘 유지되어 있는 점으로 보아 폐포-폐혈관 장벽(alveolar-capillary barrier)이 잘 유지되고 있었다(Fig. 10). 그러나 LPD 용액으로만 보존한 군은 폐포 상피세포에 공포형성(vacuolization)과 사립체 부종, 자가식세포(autophagic vacuole) 및 세포간질에 부종이 관찰되었고, 폐포 내에도 부종액이 관찰되었다.

또한 혈관 내피세포에도 부종과 부분적인 공포형성이 관찰되었으나 비교적 기저막의 구조는 잘 유지하고 있었다(Fig. 11A & B).



Fig. 10. Transmission electron micrograph of a rabbit lung in group IV(x12,500). The overall normal appearance of capillary endothelium and alveolar epithelial cells with infrequent endothelial vacuole. A: Alveolar space, R: Red blood cell, V: Vacuole, Intact basement membrane between endothelium and epithelium(arrow).

고 찰

최근 폐이식에 대한 많은 실험적인 연구가 초기 재관류 기간 동안 이식된 폐의 운명을 좌우하는 폐혈관계의 역할규명에 초점을 맞추어 왔다. NO와 cAMP는 혈관 내피세포들 사이 및 세포 안의 제 2 전령 물질로 혈관의 항상성을 조절하는 중요한 역할을 한다³⁾. NO는 세포의 guanylyl cyclase의 heme에 부착되어 세포 안에서 cyclic GMP의 생성을 증가시켜 혈관 평활근 이완, 혈소판 응집억제, 내피벽 방어능력유지 및 혈관내막에 백혈구의 부착을 억제시키는 기능을 한다¹¹⁾. 또한, cAMP도 혈관 내피세포에서 이와 유사한 작용을 한다¹²⁾. 그러나 허혈-재관류 과정 동안 혈관 내피세포에서 NO와 cAMP의 양이 감소됨으로 인해 폐혈관의 투과성이 증가되고, 혈전생성능력이 활성화되며 백혈구가 침착하게 된다⁵⁾.

Naka 등¹³⁾은 쥐의 이식폐 모델에서 NO의 전구물질인 NTG를 폐보존액에 첨가함으로써 이식폐의 기능을 현저히 호전시킬 수 있다고 하였다. NTG는 세포 내에서 s-nitrosolthiol intermediate 경로로 작용하여 직접적으로 guanylate cyclase를 자극하거나 해당세포에서 국소적으로 NO의 분비를 촉진시키는 작용을 한다¹⁴⁾. db-cAMP는 세포막을 투과하는 cAMP의 유사체로 직접 세포 내에서 cAMP로 전환되거나 phosphodiesterase의 활성을 억제하여 cAMP 대사를 방지함으로써 cAMP의 양을 증가시켜 허혈-재관류 손상을 줄일 수 있다고 하였다^{4,15)}.

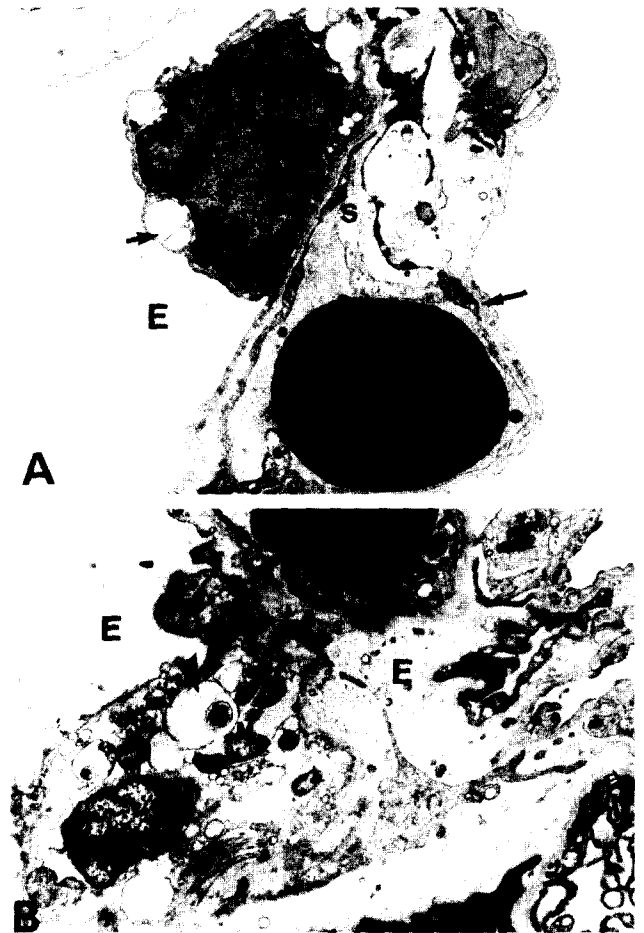


Fig. 11. Transmission electron micrograph(TEM) of a portion of rabbit lung after 30 minutes of reperfusion in group I (x10,000) A. Numerous vacuolization(short arrow) in type I pneumocyte, interstitial and endothelial swelling (S) with preservation of basement membrane (long arrow), and edema fluid in the alveolar space (E). B. Intraalveolar and interstitial edema (E) with autophagic vacuoles (arrow head) and mitochondrial swelling (M) in type II pneumocyte, and edema fluid in the alveolar space.

세포내액형 폐보존액은 세포내액의 조성도와 같은 고농도의 칼륨을 주성분으로 하고 있는데, 높은 칼륨농도로 인해 폐동맥 수축을 유발하여 균일하게 폐보존액을 주입할 수 없는 단점이 있어 흔히 강력한 폐혈관 확장제인 prostaglandin E1 (PGE1)을 병용하고 있다. 그래서 이러한 단점을 보완하기 위해 저농도의 칼륨을 함유하는 세포외액형 보존액인 칼륨농도 4 mmol/L의 LPD 용액이나 44 mmol/L의 ET-Kyoto 용액을 개발하여 각종 실험에서 폐보존 효과를 입증하였다^{7,8)}. Liu 등⁷⁾은 ET-Kyoto 세포외액성 용액에, Kayano 등¹⁰⁾은 칼륨농도 120 mmol/L의 University of Columbia 세포내액형 용액에 db-cAMP와 NTG를 첨가함으로써 폐보존 효과를 향상시킬

수 있다고 하였는데, 저자들은 칼륨농도가 가장 낮은 세포외액형 LPD 폐보존액에 NTG나 db-cAMP를 단독 혹은 병합 첨가함으로써 이 들의 효과를 비교하여, 이식폐의 결핍된 NO와 cAMP의 보강이 LPD 용액의 폐보존 효과를 호전시킬 수 있는지를 알아보았다.

본 실험에서 사용한 토끼 폐장 분리관류 모형은 Wisser 등⁹⁾과 성숙환 등¹⁰⁾이 사용한 모델을 변형하였는데, 이 들과의 차이점은 항온항습을 유지하기 위해 큰 항온수조가 포함되어 있는 플라스틱통을 제작하는 대신에 비교적 간편하고 공간을 덜 차지하는 성인용 인공심폐기용 저혈조를 개조하여 사용하였다. 재관류액은 희석하지 않은 정맥혈액을 사용하여 지속적으로 재관류시킴으로써 시간에 따른 폐기능 및 혈액성분의 변화를 일정하게 관찰할 수 있었다. 실제 임상적으로나 실험적으로 초기 재관류기간 동안에 대부분의 허혈-재관류 손상이 나타나기 때문에 30분 동안의 재관류 시간은 비교적 짧았지만 충분히 보존폐의 기능을 평가 할 수 있다고 생각된다.

가장 중요한 폐의 기능은 가스를 전달하는 것으로 형태학적, 방사선학적, 혈액학적, 생화학적 또는 생물학적 소견보다 유출혈액의 산소분압을 측정하여 비교하는 것이 더 중요하다¹⁶⁾. 본 실험에서도 100% 산소농도로 30분 동안 환기시켰을 때, 단순 LPD 용액을 사용한 I 군의 산소분압이 248.3 ± 13.9 mmHg로 NTG나 db-cAMP를 첨가하여 보존한 제 II, III, IV 군의 419.7 ± 20.4 mmHg, 380.7 ± 22.1 mmHg, 425.3 ± 17.9 mmHg에 비해 훨씬 낮아 폐보존 효과가 충분하지 못함을 알 수 있었으나, II, III, IV 군은 거의 충분히 산소분압이 유지되는 것으로 보아 폐기능이 잘 유지된다고 판단할 수 있었다. 또한, 이식된 폐의 기능이 저하될 때 민감하게 반응하는 척도로서 폐동맥압과 기도내압이 있는데, 기도내압은 폐의 기능이 아주 저하되기 전에는 잘 변하지 않으나 폐동맥압은 폐기능의 저하와 더불어 가장 민감하게 상승하는 지표이다¹⁰⁾. 제 I 군은 재관류 시작 직후 폐동맥압이 34.2 ± 1.5 mmHg에서 30분 동안 재관류 후에는 39.7 ± 1.2 mmHg로 현저히 높게 유지된 점과, 기도내압이 10.0 ± 0.4 mmHg에서 12.5 ± 0.5 mmHg로 현저히 높게 유지된 점으로 보아 폐보존에 확실한 한계가 있음을 시사한다. 그런데 각각 NTG나 db-cAMP로만 보존한 제 II 군과 III 군의 폐동맥압의 변화는 재관류 10분 후부터 서서히 상승하여 30분 경에는 NTG와 db-cAMP를 병합 사용한 제 IV 군에 비해 통계적으로 의미는 없지만 점차 더 증가하는 소견을 보였다. 이는 아마도 재관류 손상이 NTG와 db-cAMP를 병합 사용한 경우보다 서서히 더 진행되었던 것으로 여겨지며, 재관류 시간이 30분 이상 늘어날 경우 NTG와 db-cAMP를 병합 사용한 경우에 비해 폐보존 효과가 훨씬 더 낮을 것이라고 추측된다. 이는 통계적인 의미는 없지만

전반적인 기도내압의 증가와 폐수분 함량이 높은 점이 이를 시사한다고 할 수 있다.

토끼의 정상적인 평균 폐동맥압은 10~15 mmHg 정도이나 본 실험에서의 압력은 다른 군 들 뿐 아니라 제 IV 군의 경우에도 재관류 시작시 26.8 ± 0.6 mmHg에서 30분 후 23.3 ± 0.8 mmHg로 계속 높게 유지되었는데, 재관류 후 이러한 폐동맥 고혈압의 발생은 Kontos 등¹⁷⁾의 주장과 같이 저온상태의 폐보존, 적출된 폐의 탈신경(denervation)과 실험조작 중의 폐조직 자극 및 체외순환의 기계적 손상 등으로 인해 폐동맥 혈관체계의 총체적 반응이 높아진 것으로 추측된다. 이를 해결하기 위해 임상적으로 PGE1 이나 prostacyclin I2(PGI2)와 같은 강력한 폐혈관 확장제를 사용하나 본 실험에서는 NTG와 db-cAMP의 폐혈관계에 대한 작용과 정확한 대조결과를 보기 위해 PGE1을 사용하지 않았다.

TNF- α 는 lipopolysaccharide에 노출된 단핵세포/대식세포에서 주로 분비되는 cytokine으로 혈관계에서는 내피세포의 cAMP 양을 감소시키고, 부분적으로 cyclic nucleotide phosphodiesterase의 활성을 증가시켜 cAMP의 대사를 늘려 내피세포의 방어능력 저하 및 혈관벽에 백혈구 부착을 조장하는 여러 adhesion molecule의 발현을 유도하며 내피세포의 혈전 생성능력과 혈관투과성을 증가시킨다³⁾. 또한, Yoshimura 등¹⁸⁾은 cAMP 및 db-cAMP나 Bromo-cAMP 같은 cAMP 유사체가 TNF- α 의 발현과 작용을 억제한다고 하였다. 본 실험에서 이식 장기손상의 매개체로 작용하고 이의 잠재적인 지표로 여겨지는 TNF- α 를 정량 측정함으로써 혈관 내피세포의 기능을 간접적으로 평가하였다. 개의 일측 폐이식 모델을 이용한 Kayano 등³⁾의 연구결과 그 들이 고안한 NTG와 db-cAMP가 함유된 용액이 다른 세포외액성 용액에 비해 TNF- α 의 분비가 현저히 적었다고 하였고, Chiang 등¹⁹⁾은 쥐의 분리관류 모델에서 UW 용액에 db-cAMP의 첨가가 TNF- α 의 분비를 감소시킴으로써 폐보존 효과를 높일 수 있다고 하였는데, 이는 본 실험과 일치하는 소견으로 재관류 10분, 30분에 측정된 TNF- α 의 분비는 NTG와 cAMP를 동시에 첨가한 제 IV 군이 단순 LPD 용액으로 보존한 제 I 군 보다 현저히 낮은 점으로 보아 혈관 내피세포 보존효과가 있음을 확인할 수 있었다.

NO는 정상 생리반응의 신호전달물질로 작용하여 수많은 생리적 반응에 관여하고 있고, 여러 질병의 병태생리학적 기전에서 아주 중요한 역할을 하는 물질이다. 혈관 내피세포가 허혈-재관류 과정에 노출되면 재관류기간 동안 superoxide의 급격한 생성으로 인해 NO의 양은 감소되고, 이러한 superoxide와 같은 reactive oxygen intermediate 들은 폐 안에서 NO와 급격히 반응하여 이 과정에서 매우 강력한 독성물질인 peroxynitrite와 hydroxyl radical을 생성한다²⁰⁾. 이로 인해 유용

한 NO의 소실은 아주 초기의 폐 이식기간에 혈관 내피세포의 기능소실과 이식 폐의 부전에 관여된다. 본 실험에서는 허혈폐의 재관류 후 NO의 총량을 간접적으로 알기 위해 대사물인 nitrite(NO₂-)와 nitrate(NO₃-)를 정량 하였다. 결과적으로 NTG를 첨가한 제 II 군과 IV 군은 재관류 중에도 예측대로 현저하게 NO의 대사물의 농도가 높았던 것이 확실히 폐보존을 호전시킬 수 있는 요인이 된다는 것을 입증할 수 있었으나, 제 I 군과 III 군에서는 재관류 30 분 후 NO가 의미 있게 저하된 소견을 보였다. 그럼에도 불구하고 cAMP만 첨가한 III 군에서 NO의 양과는 무관하게 제 I 군에 비해 폐보존기능이 비교적 잘 유지되었는데, 이는 cAMP와 NO/cGMP의 작용경로 사이에는 교차기능이 있다는 주장²¹⁾과, db-cAMP와 같은 cAMP 유사체가 세포 내에서 cGMP-dependent protein kinase의 직접적인 활성 매개체로 작용하기도 하며²²⁾, Naka 등¹²⁾의 연구에서처럼 cAMP-dependent protein kinase는 NO/cGMP 작용경로와는 무관하게 폐보존 효과를 호전시키는데 중요하다고 주장한 것과 일치하는 소견이다.

c-AMP는 prostaglandin(PG)의 매개체로 작용하는데 허혈-재관류 손상에 있어 PG의 사용 이점에 대해서는 논란의 여지가 많다. Bhabra 등²³⁾은 쥐의 분리관류 모델에서 PG/cAMP 경로와 NO/cGMP 경로 각각에 작용하는 약제의 비교결과 NO/cGMP 경로가 훨씬 중요하다고 하였다. 본 실험의 경우 NTG나 db-cAMP만 사용한 경우의 비교에서 보면 db-cAMP만 사용한 경우 폐기능 저하가 시간이 경과함에 따라 더 진행된 점과 폐부종이 더 생겼던 점으로 보아 이들의 주장이 뒷받침된다. 그러나 본 실험의 결과는 통계적인 의미는 없었는데, 본 실험모델의 재관류 시간이 30분으로 제한된 점이 이 같은 결과를 일으켰다고 추측되어진다. 그리고 Higgins 등²⁴⁾은 영장류의 심폐이식 모델에서 PGE1/c-AMP 경로와 또다른 NO의 공급원인 nitroprusside/cGMP 경로의 비교에서 산소교환능력에서는 큰 차이가 없었고, 전자현미경소견에서는 PGE1/c-AMP를 사용한 경우에 더 좋은 결과를 보고하였는데, 저자의 경우 통계적으로 유의하지 않았지만 db-cAMP를 사용한 경우 다소 산소분압이 낮았으나 두 군간에 전자현미경학적으로 이러한 미세구조상의 차이점은 발견할 수 없었다.

본 실험에서 조직학적인 소견상 db-cAMP나 NTG를 첨가한 군은 Seibert 등²⁵⁾의 소견과 같이 비교적 경미한 염증세포의 침윤 이 외에 폐포 및 폐혈관의 형태가 정상적인 소견을 보였으며, 이는 전자현미경소견으로 확인 할 수 있었다. 그러나 단순 LPD 용액만으로 보존한 폐의 소견은 Kosaka 등²⁶⁾과 Pierre 등²⁷⁾의 재관류 손상으로 인한 폐의 전자현미경소견과 유사하게 혈관 내피세포의 변형손상보다 주로 폐포 상피세포의 공포형성(vacuolization)과 폐포 및 간질내 부종이 흔히 관찰되었다. 이는 구조적으로 혈관 내피층의 여유있는 연

접으로 인하여 내피세포의 변형손상 없이 확장된 폐쇄소대의 간격을 통해 혈장 및 혈액세포가 간질 내로 빠져나가 부종을 일으키고 간질 내 압력을 높이며 출혈을 유발하는데, 이러한 과정이 진행됨에 따라 상피층이 기저막 위로 들러 올라가 큰 공포를 형성하게 되고 결국 이것이 파열되어 폐포 내로 삼출됨으로써 가스교환의 장애를 일으키는 원인이 된다²⁷⁾.

본 실험에서는 통계적으로 유의하지 않았지만 전반적으로 db-cAMP 및 NTG를 병합사용한 제 IV 군이 각각 단독으로 사용한 II, III 군에 비해 폐보존 효과가 더 좋은 소견을 나타낸 것은 cAMP 및 NO/cGMP 경로의 복합적인 상승효과라고 여겨진다. 또한, 통계적으로 유의하지 않지만 NTG를 사용한 제 II 군이 db-cAMP만 사용한 제 III 군보다 혈역학적으로나 산소교환능력, 폐부종 정도로 평가해 볼 때 폐보존 효과가 더 우수하다고 여겨진다. 하지만 이 들에 대한 보다 더 정확한 평가와 각각 약제에 대한 역할의 차이점을 알기 위해서는 폐장 분리관류 모형에서 장시간의 재관류 과정 및 직접적인 폐이식 동물모델에 대한 적용 등의 추가적인 연구가 필요하다고 여겨진다.

결 론

토끼 폐장 분리관류 모형에서 LPD 세포외액성 폐보존 용액에 폐혈관계의 항상성을 유지시키는 db-cAMP 및 NTG 단독 혹은 이 들의 복합적인 첨가는 혈역학적, 기능적 및 형태학적으로 폐보존 효과가 우수함을 확인하였다. 또한, 이 들 각각의 성분이 함유된 폐보존액의 효과는 서로 큰 차이는 없었으나, 두 약제의 병합사용이 폐보존에 더 유리하다고 여겨지며 임상응용을 위한 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

참 고 문 헌

1. Hosenpud JD, Novick RJ, Bennet LE, Keck BM, Fiol B, Novick RJ. *The registry of the international society for heart and lung transplantation*. J Heart Lung Transplant 1997;15:655-74.
2. Hopkinson DN, Bhabra MS, Hooper TL. *Pulmonary graft preservation: a worldwide survey of current clinical practice*. J Heart Lung Transplant 1998;17:525-31.
3. Kayano K, Toda K, Naka Y, Okada K, Oz MC, Pinsky DJ. *Superior protection in orthotopic rat lung transplantation with cyclic adenosine monophosphate and nitrogen-containing preservative solution*. J Thorac Cardiovasc Surg 1999;118:135-44.
4. Adkins WK, Barnard JW, May S, Seibert AF, Haynes J, Taylor AE. *Compounds that increase cAMP prevent*

- ischemia-reperfusion pulmonary capillary injury. *J Appl Physiol* 1992;72:492-7.
5. Pinsky DJ, Naka Y, Chowdhury NC, et al. *The nitric oxide/cyclic GMP pathway in organ transplantation: critical role in successful lung preservation.* *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:12086-90.
 6. Naka Y, Chowdhury NC, Oz MC, Smith CR, Yano OJ, Michler RE. *Nitroglycerin maintains graft vascular homeostasis and enhances preservation in an orthotopic rat lung transplant model.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995b;109 :206-11.
 7. Liu CJ, Ueda M, Kosaka S, et al. *A newly developed solution enhances thirty-hour preservation in a canine lung transplantation model.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;112 :569-76.
 8. Keshavjee SH, Yamazaki F, Yokomise H, et al. *The role of dextran 40 and potassium in extended hypothermic lung preservation for transplantation.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;103:314-25.
 9. Wissner W, Oturanlar D, Minich R, et al. *Closed circuit perfusion of an isolated rabbit lung. A new model for the evaluation of preservation quality of stored lungs.* *Eur J Cardiothorac Surg* 1993;7:71-4.
 10. 성숙환, 임청, 김영태, 박종호. 허혈후 폐 보존효과를 측정하기 위한 폐장 분리관류 모형. *대흉외지* 1997;30: 573-9.
 11. Stamler JS, Loh E, Roddy MA, Currie KE, Creager MA. *Nitric oxide regulates basal and systemic pulmonary vascular resistance in healthy humans.* *Circulation* 1994;89 :2035-40.
 12. Naka Y, Roy DK, Liao H, et al. *cAMP-mediated vascular protection in an orthotopic rat lung transplant model: insights into the mechanism of action of prostaglandin E1 to improve lung preservation.* *Circ Res* 1996;79:773-83.
 13. Naka Y, Chowdhury NC, Liao H, et al. *Enhanced preservation of orthotopically transplanted rat lungs by nitroglycerin but not hydralazine: requirement for graft vascular homeostasis beyond harvest vasodilation.* *Circ Res* 1995a;76:900-6.
 14. Ignarro LJ, Ross G, Tillisch J. *Pharmacology of endothelium-derived nitric oxide and nitrovasodilators.* *West J Med* 1991;154:51-62.
 15. Nakamura T, Hirata T, Fukuse T, Ueda M, Hitomi S, Wada H. *Dibutyl cyclic adenosine monophosphate attenuates lung injury caused by cold preservation and ischemia-reperfusion.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997;114: 635-42.
 16. Kirk AJB, Colguhoun IW, Dark JH. *Lung preservation : a review of current practice and future directions.* *Ann Thorac Surg* 1993;56:990-1000.
 17. Kontos GJ Jr, Hashimoto K, Mashburn JP, Schaff HV. *Regulation of pulmonary resistance during cardiopulmonary preservation.* *Transplantation* 1992;53:292-302.
 18. Yoshimura T, Kurita C, Nagao T, Usami E, Nakao T, Watanabe S. *Inhibition of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1-beta production by beta-adrenoceptor agonists from lipopolysaccharide-stimulated human peripheral blood mononuclear cells.* *Pharmacology* 1997;54:144-52.
 19. Chiang CH, Hsu K, Yan HC, Harn HJ, Chang DM. *PGE1, dexamethasone, U-74389G, or Bt2-cAMP as an additive to promote protection by UW solution in I/R injury.* *J Appl Physiol* 1997;83(2):583-90.
 20. Hogg N, Darley-Usmar VM, Wilson MT, Moncada S. *Production of hydroxyl radicals from the simultaneous generation of superoxide and nitric oxide.* *Biochem J* 1992 ;281:419-24.
 21. Thompson WJ. *Cyclic nucleotide phosphodiesterases: pharmacology, biochemistry and function.* *Pharmacol Ther* 1991;51:13-33.
 22. Corbin JD, Ogreid D, Miller JP, Suva RH, Jastoff B, Doskeland SO. *Studies of cGMP analog specificity and function of the two intrasubunit binding sites of cGMP-dependent protein kinase.* *J Biol Chem* 1986;261: 1208-14.
 23. Bhabra MS, Hopkinson DN, Shaw TE, Hooper TL. *Relative importance of prostaglandin/cyclic adenosine monophosphate and nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate pathways in lung preservation.* *Ann Thorac Surg* 1996;62:1494-9.
 24. Higgins RS, Letsou GV, Sanchez JA. *Improved ultrastructural lung preservation with prostaglandin E1 as donor pretreatment in a primate model of heart-lung transplantation.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;105:965-71.
 25. Seibert AF, Thompson WJ, Taylor A, Wilborn WH, Barnard J, Haynes J. *Reversal of increased microvascular permeability associated with ischemia-reperfusion: role of cAMP.* *J Appl Physiol* 1992;72:389-95.
 26. Kosaka S, Bando T, Liu C, Suzuki Y, Hitomi S, Wada H. *Ultrastructural changes in canine lung preserved in newly developed solutions.* *J Sur Res* 1996;63(2):467-73.
 27. Pierre AF, DeCampos KN, Liu M, et al. *Rapid reperfusion causes stress failure in ischemic rat lung.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998;116:932-42.

=국문초록=

배경: 이식폐의 보존 및 재관류 동안 cyclic adenosine monophosphate(cAMP)와 nitric oxide (NO)는 폐혈관 내 순환조절을 유지하는데 있어 중심적인 역할을 한다. 그러나 내피세포 내의 cAMP와 NO 모두 허혈-재관류 과정 동안에 현저하게 감소한다. 이에 저자는 low potassium dextran(LPД) 폐보존액에 cAMP의 유사체인 dibutyl cAMP(db-cAMP)와 NO의 공여물질인 nitroglycerin(NTG)을 첨가하여 이들의 폐보존 효과를 알아보고, 이 들을 첨가한 폐보존액 들의 효과를 비교하였다. **대상 및 방법:** 토끼 폐장 분리관류 모형에 실험군은 각각 6마리씩 4개군으로 단순 LPD 폐보존액만 사용한 경우(I 군), LPD 용액에 NTG 만 첨가한 경우(II 군), cAMP 만 첨가한 경우(III 군) 그리고 두가지 모두를 첨가한 경우는 IV 군으로 분류하였으며, 폐보존액이 주입된 심폐블록은 영상 10 °C에서 24시간 동안 보관한 다음 100% 산소농도에서 기계호흡을 하면서 신선 정맥혈로 30분 동안 재관류를 시행하였다. 재관류폐의 평가를 위해 폐기능 및 폐부종 정도를 정량 측정하였으며, 유출로 혈액으로부터 tumor necrosis factor α (TNF- α)와 간접적인 NO의 총량을 알기위해 nitrite/nitrate의 양을 측정하였다. 또한 재관류가 끝난 후 광학 및 전자현미경학적 소견을 관찰하였다. **결과:** 모든 실험군 중 제 IV 군의 폐보존 능력이 가장 우수하였으나 제 II, III, IV 군 사이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 제 I 군은 제 II, III, IV 군 들에 비해 유의하게 폐기능이 가장 나쁘고 폐부종 정도가 가장 심했다($p<0.05$). 제 II 군은 제 III 군에 비해 더 좋은 폐기능을 보였고 폐부종 정도가 덜 하였으나 통계적인 유의성은 없었다. TNF- α 는 제 IV 군이 I 군에 비해 유의하게 분비량이 적었다($p<0.05$). 총 NO의 양은 제 II 군과 IV 군이 제 I 군과 III 군보다 유의하게 높았으나($p<0.001$), 제 II 군과 IV 군, 제 I 군과 III 군 사이 비교에서 유의한 차이는 없었다. 또한, 제 I 군과 III 군에서는 시간이 지남에 따라 유의하게 NO의 양이 점차 감소하였다($p<0.05$). 광학 및 전자현미경 소견상 폐포 및 폐혈관 구조가 제 II, III, IV 군이 I 군에 비해 더 잘 보존되어 있었다. **결론:** LPD 폐보존액에 db-cAMP 및 NTG의 첨가는 폐보존 효과가 모두 우수함을 확인하였고 이 들의 폐보존 효과 차이는 거의 없음을 알 수 있었다. 그렇지만 이 들의 병합사용이 폐혈관 항상성을 더 잘 유지시킬 수 있고 허혈-재관류 손상을 줄여 폐보존 효과를 높일 수 있을 것이라고 기대된다.

- 중심 단어:** 1. 폐보존, 허혈-재관류 손상
2. 폐혈관 항상성