

# 초냉동 보관된 백서의 동종 기관 이식편의 대망 내 이식에 따른 조직 생육성 및 혈관 형성

김용희\* · 박승일\* · 김동관\* · 김규래\*\*

## The Viability & Vascularization of the Cryopreserved Rat Tracheal Allografts with Omental Implantation

Yong Hee Kim, M.D.\*, Seung Il Park, M.D.\*, Dong Kwan Kim, M.D.\*, Kyu-Rae Kim, M.D.\*\*

**Background:** Using the neovascularizing properties of the omentum, we studied the viability and vascularity of the cryopreserved rat tracheal allografts with omental implantation. **Material and Method:** The cryopreserved tracheal allografts of eight-week old male Sprague Dawley rats were implanted into the omentum. The rats were divided into the four groups according to the duration of cryopreservation and of omental implantation. We examined the tracheal allografts histologically for viability of cartilages, inflammation and fibrosis of smooth muscle and connective tissue, and degree of vascularity. **Result:** The degree of inflammation in the smooth muscle and the connective tissue of the tracheal allografts was not statistically related to neither the duration of cryopreservation or of omental implantation. The tracheal cartilages of the tracheal allografts were found to be severely calcified in all cases. Significant difference in vascularity was found between the groups I and II ( $p < 0.05$ ). And a sufficient vascularity in the intercartilaginous space was observed in the midportion of the the tracheal allografts as well as both ends. **Conclusion:** In conclusion, the omental implantation for 2 weeks could establish a sufficient vascularity in the intercartilaginous spaces for maintaining the viability of the tracheal allografts. This study might provide a possibility of the sequential tracheal allotransplantation after omental implantation.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2004;37:623-631)

- Key words:**
1. Viability
  2. Allograft
  3. Omentum
  4. Cryopreservation
  5. Tracheal transplantation

### 서 론

장분절의 기관 손상에 대한 치료는 자가 조직을 이용한 기관 보조물이나 인공 보조물을 이용한 기관 재건술 혹은

기관 이식을 고려해야 한다. 자가 조직을 이용한 기관 보조물로는 늑연골, 공장, 대동맥, 식도 등이 사용되었으나, 기관 내경을 유지하는 데 문제가 있는 등 결과가 만족스럽지 못했다. 인공 기관 보조물로는 marlex mesh, stainless

\*울산대학교 의과대학 서울아산병원 흉부외과

Department of Thoracic & Cardiovascular Surgery, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea

\*\*울산대학교 의과대학 서울아산병원 병리과

Department of Pathology, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea

논문접수일 : 2004년 5월 12일, 심사통과일 : 2004년 7월 2일

책임저자 : 박승일 (138-040) 서울시 송파구 풍납 2동 388-1, 서울아산병원 흉부외과

(Tel) 02-3010-3580, (Fax) 02-3010-6966, E-mail: sipark@amc.seoul.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

steel, tantalum mesh, glass, polytetrafluoroethylene graft, acrylic tube 등 여러 종류가 시도되었으나 기관 보조물 내면에 기관 상피세포의 재생이 없고, 문합 부위 등에 육아 조직이 과다하게 자라고, 기관 협착이 유발되거나 문합 부위의 파열 등이 있는 등 많은 문제점들을 보였다[1-3].

최근 임상에서 일부 제한적으로 시행되고 있는 동종 기관 이식은 적절한 냉동 보관 및 혈류 공급과 같은 문제점들이 해결된다면 임상적 이용 가능성을 높일 수 있을 것이다[2]. 즉 기관 이식편을 대망 이식편으로 보강을 하면 알려진 바대로 대망의 혈관 형성능으로 일부에서 혈관 형성이 이루어지나[4], 횡격막을 통해 대망 이식편을 경부의 기관 이식 부위까지 끌어올리면서 대망 이식편의 긴장 증가 및 횡격막이나 종격동의 압박 등으로 인해 대망 이식편의 혈류 공급이 감소되어 효과적인 혈관 축진이 일어나지 못할 수 있고, 혈관 형성 정도를 예측할 수 없다는 점 등이 해결되어야 할 문제라고 볼 수 있다. 이에 본 연구는 초냉동 보관된 10~11개의 기관 연결을 포함한 장분절 기관 이식편을 각기 다른 기간 동안 대망 내 이식함으로써 대망 내 이식이 기관 이식편의 조직 생육성 및 혈관 형성 등에 미치는 영향을 분석하고자 하였다. 이것은 향후 실질적인 장분절의 기관 이식을 고려할 때 기관 이식편을 일차적으로 대망 내 이식함으로써 충분한 혈관 형성이 이루어지도록 해서 장분절의 기관 이식 시 기관 이식편의 허혈성 손상으로 인한 이식 실패의 위험성을 줄이고, 단계적인 기관 이식의 가능성을 높이는 데 도움을 줄 수 있을 것으로 생각한다.

## 대상 및 방법

### 1) 연구 재료 및 연구군의 분류

기관의 공여 및 이식 동물로는 몸무게가 300~350 gm 인 8주령의 Sprague Dawley rat 수컷을 이용하였다. 연구군의 분류는 기관 이식편의 냉동 보관기간(2주, 4주)과 대망 내 이식기간(2주, 4주)에 따라 다음과 같이 분류하였다. I 군은 2주간 초냉동 보관 후 2주간 대망 내 이식된 백서를(n=13), II군은 2주간 초냉동 보관 후 4주간 대망 내 이식된 백서를(n=13), III군은 4주간 초냉동 보관 후 2주간 대망 내 이식된 백서를(n=13), IV군은 4주간 초냉동 보관 후 4주간 대망 내 이식된 백서를(n=13) 대상으로 하였다.

### 2) 기관 획득

대상 백서는 수술 전날 cefazoline sodium (유한양행, 서

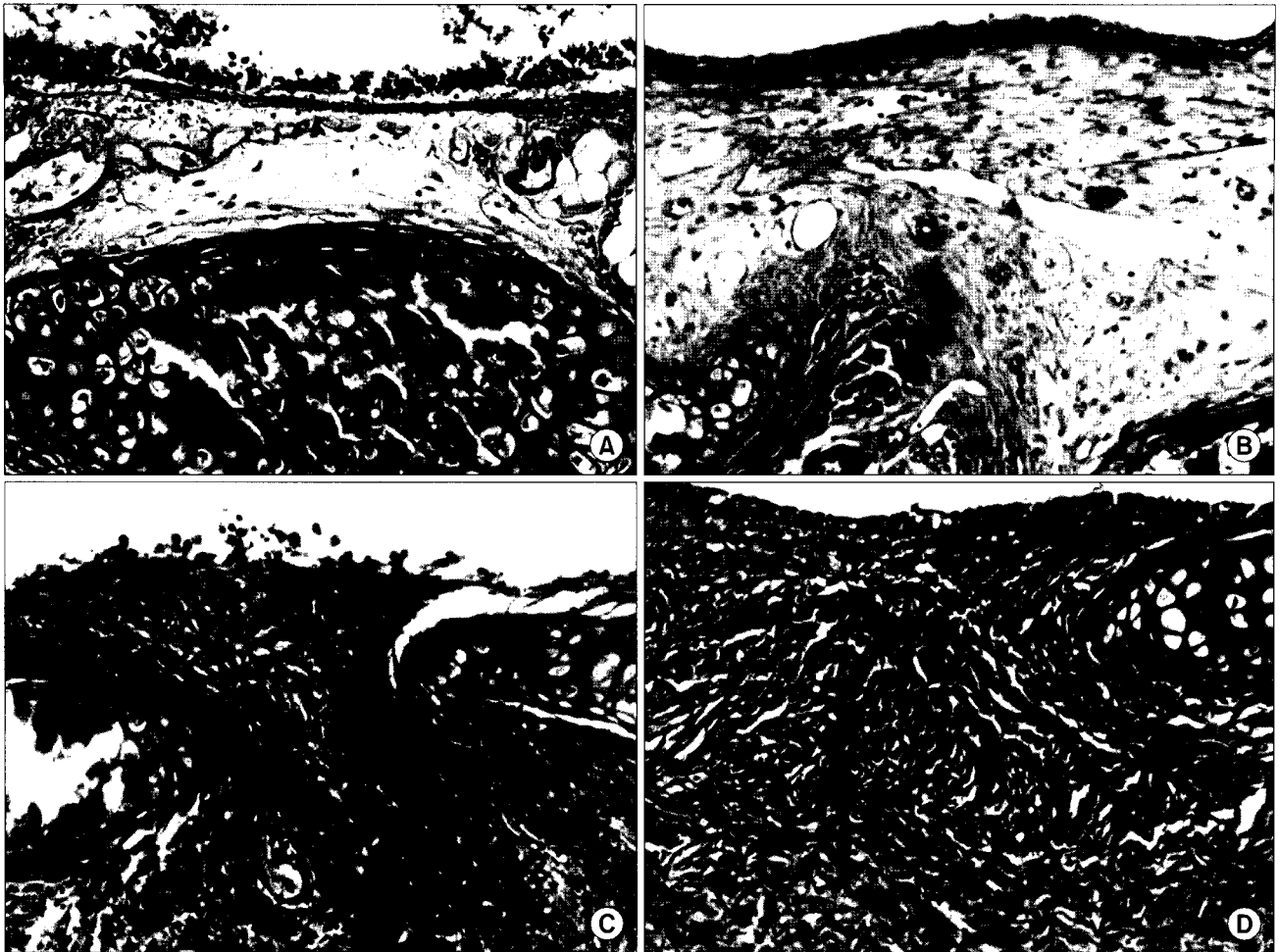
울) 15 mg/kg을 근육 주사하였다. 수술 전 4시간 동안 물만을 주면서 금식을 시킨 후, 마취를 위해 ketamine HCL (유한양행, 서울) 10 mg/kg을 근육 주사하고, pentobarbital sodium (중외제약, 서울) 70 mg/kg을 복강 내 주사한 후 heparin sodium (한림제약, 서울) 500 Unit/kg을 복강 내 주사하였다. 수술은 흉골 정중 절개를 하고, 피부 절개를 턱까지 연장하였다. 흉선을 제거한 후 상행 대동맥을 노출시켜 Silicone tube (Feeding tube, 5FR, HMS, Korea)로 동맥관 삽입을 시행하고, 상행 대동맥을 절찰하였다. 차가운 심정지액(중외 심정지액 1호, 중외제약, 서울) 100 mL를 상행 대동맥으로 주입해서 심정지를 유도한 후 기관을 성대 부위부터 기관 분지부까지 절제하였다. 획득된 기관은 육안으로 보이는 기관 주변 혈관 및 섬유 조직을 제거하고, 항생제(cefazoline sodium, 250 mg/L)가 섞인 0.9% 생리 식염수로 세척한 후 기관의 길이, 내경을 측정하고, 10~11개의 기관 연결을 포함한 1~1.3 cm의 기관 이식편을 만들었다. 절제되어 허탈된 상태의 기관 이식편보다 2~3 mm 정도 긴 silicone tube를 준비하여 기관 이식편을 신장시킨 상태로 silicone tube의 양 끝에 봉합사(6-0 SURGIPRO, Tyco Healthcare Group LP, Connecticut, USA)로 고정하였다.

### 3) 기관 이식편의 냉동 및 해동

냉동 보관액은 glutamine이 함유된 RPMI-1640 (Sigma-Aldrich Co, UK) 50%, dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich Co, UK) 40% 및 fetal bovine serum (FBS, Sigma-Aldrich Co, UK) 10%의 비율로 만들었다. Cryogenic vial (Nalgene cryoware, Nalge Co. Rochester, NY, USA)에 냉동 보관액을 채운 뒤 준비된 기관 이식편을 넣었다. 기관 이식편의 냉각은 Cryo Med (Forma Scientific Inc, ver 1.11, USA)를 이용하여 programmable cell freezing으로 -90°C까지 감온하고, 액체 질소통에(-196°C) 각각 2주, 4주간 초냉동 보관하였다. 초냉동 보관되었던 기관 이식편은 37°C 생리 식염수에서 급속히 해동시킨 후 5% DMSO가 포함된 RPMI-1640 용액에서 5분간, DMSO가 포함되지 않은 RPMI-1640 용액에서 5분간 세척하여 잔유 냉동 보관액을 제거하였고, 마지막으로 생리 식염수로 세척하여 대망 내 이식에 필요한 기관 이식편의 준비를 마쳤다.

### 4) 대망 내 이식 및 술 후 관리

8주 된 백서를 수술 전 6시간 동안 금식시키고, 수술 전날 항생제(Cefazoline, 15 mg/kg/d)를 근육 주사하였다. 마취된 백서는 상복부 정중 절개를 하여 복강 및 대망에 출



**Fig. 1.** Histological findings of fibrosis in the smooth muscle and the connective tissue (Masson's trichrome stain  $\times 100$ ). (A) Grade I shows the normal smooth muscle and the connective tissue. (B) Grade II shows predominant inflammation or has mainly sparse/fine collagen fibers. (C) Grade III shows abundant but thin collagen fibers more than inflammation. (D) Grade IV shows predominant and thick collagen bundles.

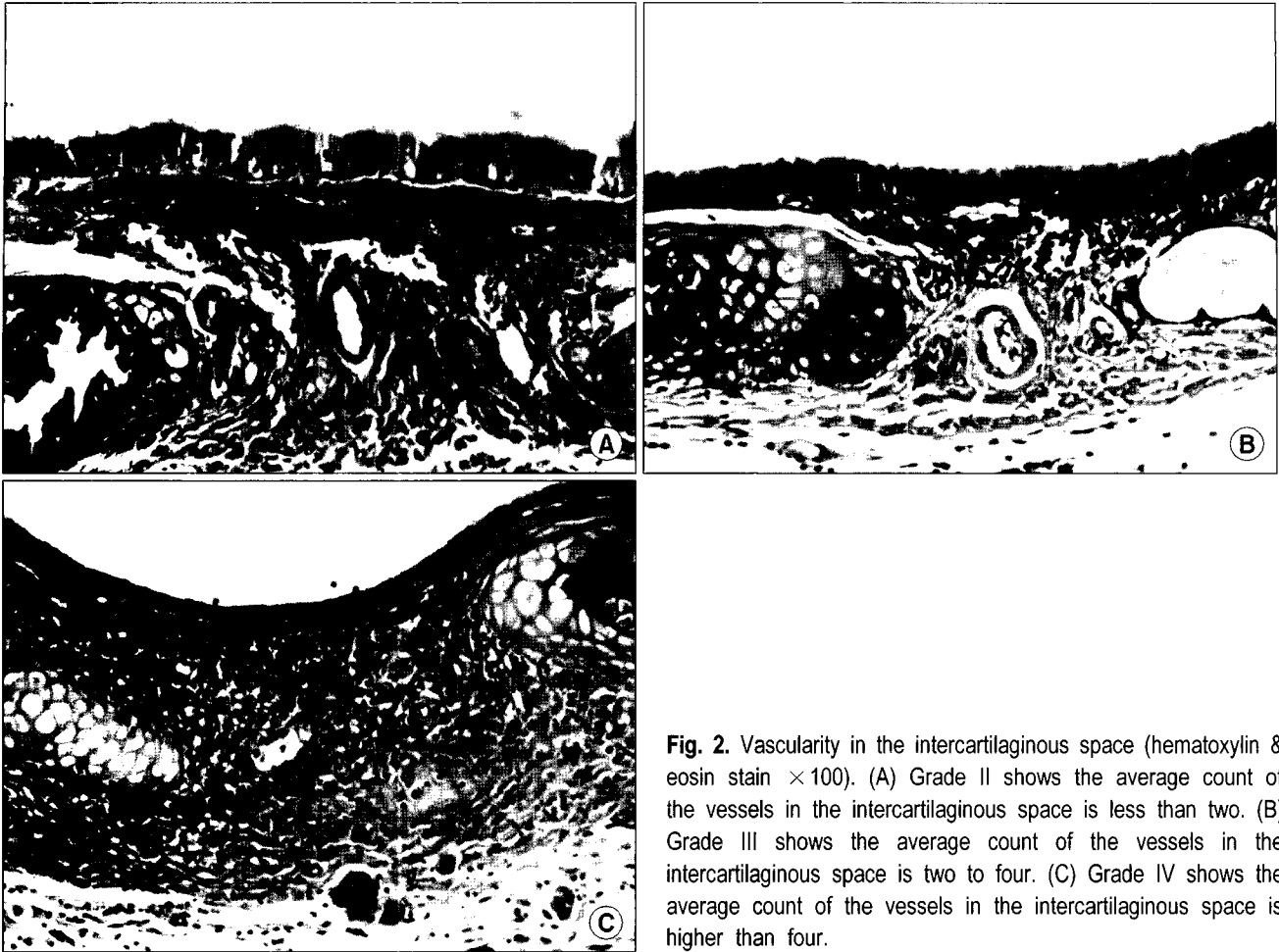
혈이나 유착과 같은 복강 내 이상 소견이 없는지 관찰한 후 검상돌기의 연골을 절제하여 연골막을 제거하고, 기관의 내경과 비슷한 크기로 연골을 준비하였다. 준비된 검상돌기의 연골을 기관 이식편의 양 끝에 봉합사(7-0 SURGIPRO, Tyco Healthcare Group LP, Connecticut, USA)로 문합해서 기관 이식편의 내강을 막았다. 기관 이식편을 대망으로 감싸 단순 봉합하는 방법으로 대망에 고정하였다. 기관 이식편이 포함된 대망을 간의 하방에 위치시켜 기관 이식편의 이동을 최소화시켰다. 기관 이식편을 대망 내 이식한 백서는 수술 다음날부터 2주간 항생제(Cefazoline, 15 mg/kg/d)를 근육 주사하면서 각각 2주, 4주간 사육하였다. 수술 후 면역 억제제는 사용하지 않았다.

##### 5) 기관 이식편의 획득

실험이 종료된 백서는 사육 우리와 함께 밀폐 용기에다 넣은 후 CO<sub>2</sub> gas를 이용하여 안락사시켰다. 안락사된 백서는 복부 정중 절개를 하여 대망과 기관 이식편을 함께 획득하였다. 획득된 덩어리에서 대망, 검상돌기 연골, silicone tube를 분리하고, 기관 이식편은 종절개하여 4% formalin 용액에 고정하였다.

##### 6) 기관 이식편의 조직학 검사

고정된 기관 이식편은 hematoxylin & eosin 염색 및 Masson's trichrome 염색을 시행하였다. 기관 이식편의 생



**Fig. 2.** Vascularity in the intercartilaginous space (hematoxylin & eosin stain  $\times 100$ ). (A) Grade II shows the average count of the vessels in the intercartilaginous space is less than two. (B) Grade III shows the average count of the vessels in the intercartilaginous space is two to four. (C) Grade IV shows the average count of the vessels in the intercartilaginous space is higher than four.

육성과 혈관 형성에 대한 평가의 기준은 병리과 전문의의 도움을 받아 새로운 기준을 마련하였고, 조직학 검사는 우선 기관 내강의 협착 여부와 육아 조직의 형성을 육안적으로 평가한 후 기관 평활근 및 주위 결합 조직의 섬유화(Fig. 1) 및 염증 정도(Fig. 2), 기관 연골의 변화, 기관 내강의 상피세포의 변형 및 소멸 정도 및 혈관 형성과 같은 5가지를 현미경적으로 연구하였다(Table 1). 혈관 형성의 측정(Fig. 5)은 기관 이식편의 양 끝과 중간 부위를 선정하여 연골간 근육층에 형성된 혈관의 수를 조사해 기관 이식편의 중간 부위 및 혈관의 전체 평균을 가지고 분석하였다.

### 7) 연구 결과의 처리

각 군의 연구 결과들은 Mann-Whitney test로 분석하고, 혈관 형성 정도의 차이나 염증 소견의 정도 차이는 chi square test를 이용하여 분석하였다. 결과들은 95% 신뢰구

간에서 p값이 0.05 이하인 경우를 통계학적으로 유의한 차이가 있는 것으로 해석하였다. 각 군에서 염증 소견, 섬유화 소견과 혈관 형성과의 상관 관계는 Spearman's rho 계수를 이용하여 p값이 0.05 이하인 경우를 통계학적으로 유의한 상관 관계가 있다고 해석하였다.

## 결 과

### 1) 수술 결과

실험 대상 백서 중 IV군의 한 마리가 마취제의 과용량으로 수술 후 1일째 사망한 것 외에 수술 사망이 없었다.

### 2) 기관 내강의 변화

획득된 기관 이식편에서 기관 내강의 협착이 관찰된 경우는 1예였다. 육아 조직이 기관 내강으로 침윤되어 가면서 기관 내강을 막은 기관 내강 폐쇄의 소견은 4주간 냉

**Table 1.** Classification of histologic grades for the tracheal allografts

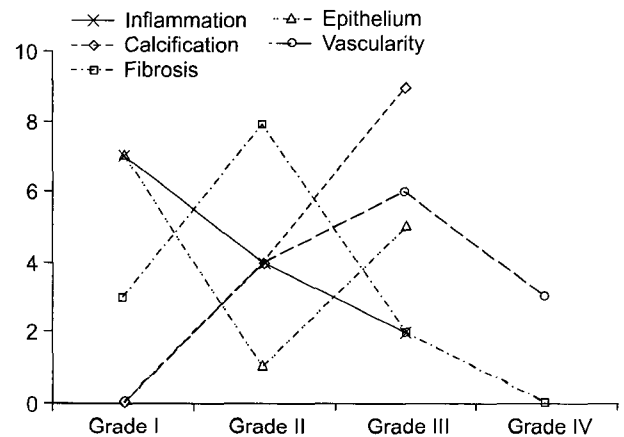
Viability of tracheal cartilage	
Grade I	Intact chondrocytes, basophilia in matrix only
Grade II	Intact chondrocytes, basophilic matrix & cytoplasm
Grade III	Destruction of chondrocytes, calcification of cartilage
Inflammation of tracheal smooth muscle & connective tissue	
Grade I	Intact muscle, presence of inflammation
Grade II	Loss of muscle, presence of inflammation, but no fibrous wall thickening
Grade III	Absence of inflammation, presence of fibrous wall thickening
Fibrosis of tracheal smooth muscle & connective tissue	
Grade I	Normal smooth muscle and connective tissue
Grade II	Predominant inflammation or increase sparse/fine collagen fibers
Grade III	Abundant but thin collagen more than inflammation
Grade IV	Predominant thick collagen bundles
Change of tracheal epithelium	
Grade I	Predominant respiratory epithelium
Grade II	Loss of respiratory epithelium
Grade III	Predominant cuboidal epithelium
Vascularity in the intercartilaginous space	
Grade I	Poor vascularity (vessel* < 1)
Grade II	Mild vascularity (1 ≤ vessel < 2)
Grade III	Moderate vascularity (2 ≤ vessel < 4)
Grade IV	Marked vascularity (vessel ≥ 4)

\*=Average count of vessels at three points, both ends and midportion of the tracheal allografts.

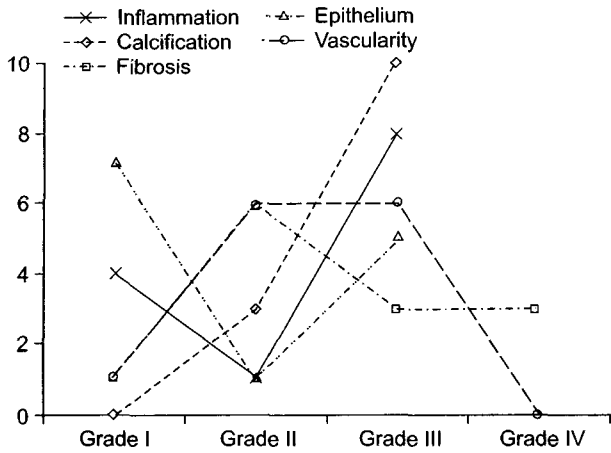
동 보관한 III군 2마리, IV군 3마리에서 보였다. 육아 조직이 발달한 기관 이식편은 근육층이 전부 소실되었고, 기관벽의 비후화가 진행되었고, 혈관 형성이 거의 없었다.

### 3) 대망 내 이식기간에 따른 기관 평활근 및 결합 조직의 변화

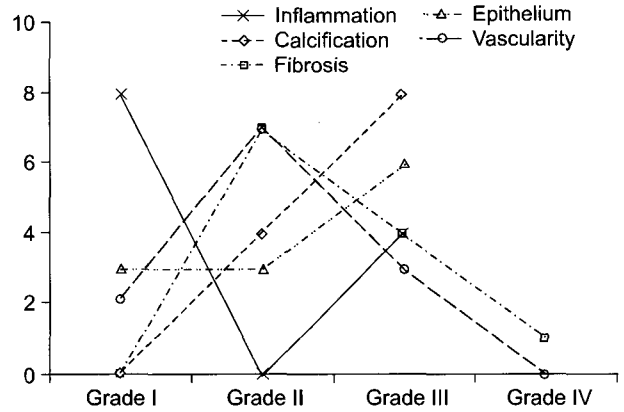
대망 내 이식기간이 2주인 I군에서 염증 소견은 경미한 경우가 대부분이었고, 근육층이 대부분 유지된 Grade I의 변화가 53.8%에서 관찰되었다. 또한 평활근 및 결합 조직의 섬유화 정도는 84.6% (11/13)가 Grade II 이내로 정상적인 평활근 및 결합 조직의 상태를 보였다(Fig. 3). 4주간 대망내 이식을 시행한 II군에서는 염증소견의 동반이 두드러졌고, 섬유화 정도는 Grade II 이내가 53.8% (7/13)였다(Fig. 4). III군의 섬유화 정도는 Grade II 이내가 53.8% (7/13)였으나, I군에 비해 점차 교원질이 증가되고, 교원질의 비후화 소견을 보였다 ( $p < 0.05$ )(Fig. 5). IV군에서는 근육층이 유지된 경우가 66.7% (8/12)였고, 섬유화 정도는 Grade II 이내인 경우가 58.3% (7/12)였으나 I군에 비해 교원질의 증가 등의 소견이 두드러져 통계학적으로 유의한 차이를



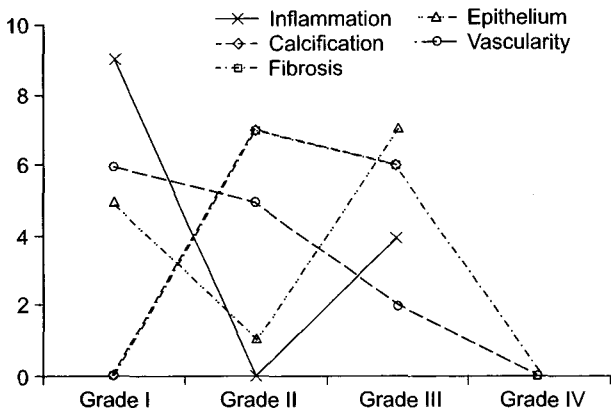
**Fig. 3.** Histological findings in group I (cryopreservation for 2 weeks and omental implantation for 2 weeks). Many cases have preserved the smooth muscle and connective tissue (grade I) and the respiratory epithelium of the tracheal allografts. Group I shows a sufficient vascularity in the intercartilaginous spaces higher than grade II in all cases.



**Fig. 4.** Histological findings in group II (cryopreservation for 2 weeks and omental implantation for 4 weeks). Many cases show loss of the smooth muscle and thickening of the tracheal wall (grade III). In most cases, group II shows a sufficient vascularity in the intercartilaginous space higher than grade II.



**Fig. 6.** Histological findings in group IV (cryopreservation for 4 weeks and omental implantation for 4 weeks). Many cases have preserved intact the smooth muscle and connective tissue (grade I) in tracheal allografts. Group IV shows relatively poor vascularity in intercartilaginous space less than grade II.



**Fig. 5.** Histological findings in group III (cryopreservation for 4 weeks and omental implantation for 2 weeks). Many cases have preserved intact the smooth muscle and the connective tissue (grade I) in the tracheal allografts. In most cases, group III shows relatively poor vascularity in the intercartilaginous space lower than grade II.

보였다( $p < 0.05$ )(Fig. 6).

기관 이식편의 염증 정도는 각 군에서 냉동 기간이나 대망 이식기간에 따라 통계학적으로 유의한 차이를 보이지는 않았으나, 냉동 보관기간이나 대망 내 이식기간이 길었던 경우 기관 연골 주위의 평활근 및 결합 조직의 섬유화가 심하게 진행되었음을 보여 주었다.

#### 4) 기관 연골의 변화

연골의 석회화 정도에서 연골 세포가 완전히 소실된 Grade III는 I군에서 69.2% (9/13), II군에서 76.9% (10/13), III군에서 46.2% (6/12), 그리고 IV군에서는 66.7% (8/12)로 각 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

#### 5) 기관 상피세포의 변화

기관 상피세포의 탈락 후 입방 상피세포로의 변화는 각 군 간에 통계학적 차이를 보이지는 않았지만 냉동기간이 길수록 증가하였다(I군 38.5%, II군 38.5%, III군 53.8%, IV군 50%).

#### 6) 기관 연골간 간격 내 혈관 형성

대망 내 이식된 기관 이식편의 혈관 형성은 기관 이식편의 양끝 부위보다는 중간 부위에서 많이 형성되었다. 양끝에서의 혈관의 평균 개수는 I군이 1.4개/3.1개, II군이 1.3개/2.3개, III군이 1개/1.5개, IV군이 0.9개/1.7개인 반면, 중간 부위에서의 혈관의 평균 개수는 I군이 3.9개, II군이 2.1개, III군이 1.4개, IV군이 1.6개였다. 전체적인 혈관의 평균 개수는 I군과 III군, I군과 IV군에서 통계적으로 유의한 차이가 있었으나( $p < 0.05$ ), 대망 내 이식기간에 따른 차이는 유의하지 않았다. 기관 연골간 간격 내 존재하는 혈관의 평균 개수가 1개 미만인 Grade I은 I군에서 0% (0/13), II군은 7.7% (1/13), III군은 46.2% (6/13), IV군은 16.7% (2/12)였다. 기관 연골간 간격 내 존재하는 혈관의

평균 개수가 2개 이상인 Grade III 이상을 보면, I군은 69.3% (9/13), II군은 38.5% (5/13), III군은 15.4% (2/13), IV군은 25% (3/12)로 I군과 II군 사이에 통계학적으로 유의한 차이가 있었다( $p < 0.05$ ).

혈관 형성과 관련되어 I군에서는 염증 소견이 증가할수록 혈관 형성 정도가 유의하게 감소하는 경향을 보였다( $p < 0.05$ ). 하지만 다른 군에서는 혈관 형성과 염증 정도나 섬유화 정도 사이의 관계에 있어 통계학적으로 유의한 관계를 보이지 않았다.

## 고 찰

기관 이식은 심장이나 간 이식과 달리 즉각적인 이식을 필요로 하는 경우가 많지 않기 때문에 기관 이식편의 장기간 보관을 고려해야 한다. 따라서 기관 이식이 성공적으로 시행되고 발전하기 위해서는 기관 이식과 관련된 수술적 측면의 연구뿐만 아니라, 기관 이식편의 생육성을 유지해 가면서 기관 이식편을 장기간 보관할 수 있는 냉각 방법, 냉동 보관액 및 냉동 기기 등에 관한 연구도 필요하다.

기관 이식에 있어 중요한 점들은 첫째, 타 장기의 이식과 달리 이식 후 면역 억제로 인한 문합 부위의 괴멸 등 치명적인 합병증이 발생할 가능성이 있어서 면역 억제의 방법을 선택하고 사용하는 데 많은 제약이 따른다는 점이다. 즉 기관 이식에서 면역 억제를 위한 방법으로는 방사선 조사[5], 면역 억제제(cyclosporine A, FK506, methylprednisolone, azathioprine, mizoribine)[6]의 사용 혹은 초냉동 보관을 고려할 수 있는데, 본 연구에서와 같이 기관 이식편을 초냉동 보관을 하면 이식 후 거부 반응과 밀접한 관련이 있는 기관 상피세포의 탈락이 10일경부터 시작되어 20일 정도면 대부분 일어나 추가적인 면역 억제를 하지 않더라도 거부 반응을 효과적으로 방지할 수도 있다고 알려져 있다[5-9]. 둘째 기관 협착을 방지하고, 성공적인 기관 이식을 위해서는 기관 이식편으로의 혈관 형성이 필수 조건인데 혈류 공급이 제대로 되지 않는다면 기관 이식편의 허혈성 손상이 진행되어 결국 기관 협착, 기관 이식편의 괴사, 혹은 이식 실패로 나타나므로 적절한 혈류 공급은 기관 이식의 성공 여부를 좌우하는 매우 중요한 조건이다. 따라서 기관 이식편의 문합 부위를 대망의 pedicled flap이나 fascia의 pedicled flap으로 보강한다면 혈관 형성에 도움을 줄 수 있다는 보고들이 있다. 즉 기관 이식 후 대망 이식편으로 기관 이식편을 보강하면 기관

이식편의 혈류 공급은 단단 문합 부위는 기존의 기관 및 기관의 주변 조직으로부터, 중간 부위는 대망과 같은 vascular pedicled flap으로부터 혈류 공급이 이중으로 이루어지는 것으로 알려져 있다[10-12]. 기관 이식편에서 대망에 의한 미세 혈관의 재형성은 4일 이내에 대망 혈관으로부터 시작되고, 12일에서 15일 사이에는 동종 기관 이식편에서 혈관 형성이 일어난다[10]. 하지만 2 cm 이상의 기관 이식편을 이식하면 대망 이식편의 혈액 공급 자체가 적기 때문에 기관 이식편의 생육성 유지에 도움이 되지 않고, 기관 이식편의 중간 부위에 기관 연화증이 초래됨이 보고되었다[10,13]. 이런 단점을 극복하기 위해 본 연구에서는 장분절의 기관 이식편을 일차적으로 대망 내 이식을 함으로써 충분한 혈관 형성을 유도하고자 하였다. 즉 초냉동 보관된 장분절 기관 이식편을 2주간 대망 내 이식을 한 경우 기관 이식편의 생육성을 적절히 유지할 수 있는 혈관 형성이 충분히 이루어졌다. 하지만 4주간 대망 내 이식을 한 경우 혈관 형성이 증가하기보다는 오히려 일부 감소되었다. 이 결과는 혈관 형성과 관련하여 대망 내 이식기간이 일정 기간 이상을 초과할 경우 기관 평활근이나 결합 조직의 염증이나 섬유화가 진행되고, 이로 인해 기관 연골간 간격이 좁아짐으로써 혈관 형성을 방해하는 것으로 생각되었고[14,15], 기관 이식편의 섬유화 정도와 혈관 형성 정도에 통계학적으로 유의한 상관 관계가 있음을 보여 이를 뒷받침하였다. 또한 동일한 기간에 대망 내 이식된 기관 이식편의 경우 냉동 보관기간이 길수록 기관 평활근의 섬유화가 진행되고 이로 인해 기관 연골간 간격이 좁아짐에 따라 대망 내 이식을 하더라도 혈관 형성에 장애가 있을 것으로 예상하였으나, 냉동 보관기간의 차이에 따른 기관 평활근의 섬유화 정도의 차이가 심하지 않아 냉동 보관기간 자체는 혈관 형성에 있어 장애가 되지는 않았다고 생각한다. 다만, 냉동 보관기간이나 대망 내 이식기간이 지나치게 길면 기관 연골의 석회화가 심화될 수 있었다는 점 등을 고려하면, 기관 이식편은 2주 정도만 대망 내 이식을 한다면 염증이 심하지 않고, 기관 연골의 석회화도 비교적 괜찮은 상태에서 혈관 형성이 이루어질 수 있다고 생각한다.

셋째, 초냉동 보관된 기관 이식편에서는 기관 상피세포의 탈락이 일어나고[9], 이를 이식할 경우 적절한 기관 상피세포의 재생이 이루어지는 것이 필요하다. 하지만 본 연구에서는 대망 내 이식기간이 길어짐에 따라 정상 기관 상피세포의 상실이 증가함을 볼 수 있었지만 기관 상피세포의 재생을 확인할 수 있는 연구는 이루어지지 않았다.

넷째, 초냉동 보관된 기관 이식편의 기능 유지나 내구성은 기관 연골의 생육성에 따라 크게 좌우되는데 아직 논란의 여지가 있지만 기관 연골의 생육성과 관련된 인자로 냉각 속도, 냉동 보관 온도, 냉동 보관액의 성분 혹은 냉동 보관기간 등이 중요하다고 알려져 있다[16,17]. 그의 Balderman과 Weinblatt[18]은 기관 이식편에 대한 대망 이식편의 보강이 연골 세포의 생육성을 유지하는 데 도움이 되지 않는다고 하였는데, 본 연구에서도 대망 내 이식으로 인한 혈관 형성과 연골 세포의 생육성 사이의 뚜렷한 관계를 찾을 수 없었다. 즉 기관 연골의 석회화와 관련하여 냉동 보관기간의 차이에 따른 유의한 차이가 없어 이를 뒷받침하고 있다. 연골 세포의 손상과 석회화가 대부분의 연구군에서 있었던 점을 고려하면 냉동 보관기간에 따른 차이라기보다는 기관 이식편의 초기 냉각 시 연골 세포가 냉각되면서 저온에 의한 조직의 손상이 일어났거나, DMSO와 같은 냉동 보관액의 세포 독성으로 인해 조직이 손상받았을 가능성이 있다고 생각된다. 하지만 대망 내 이식 전에 동일 조건으로 초냉동 보관되었던 기관 이식편의 기관 연골을 확인한 결과 기관 연골들이 보편적으로 잘 보존되었던 점을 고려할 때 대망 내 이식에 따른 이물 반응이나 복수 등으로 인해 기관 연골의 손상이 가속화되었을 가능성을 완전히 배제할 수 없다. 즉 기관 연골의 생육성을 적절히 유지하기 위해서는 냉각 속도의 변화나 냉동 보관액의 성분 변경을 고려할 수 있으며, 그외 기관 이식편의 이물 반응을 억제할 방법을 고려해야 한다고 생각한다. 기관 연골의 생육성을 유지할 수 있는 방안이 향후 기관 이식편을 대망 내 이식하여 기관 이식에 사용하는 데 있어 중요한 관건이 될 것으로 생각한다.

기관 이식편의 생육성을 평가하기 위한 조직학적 기준은 Macchiarini 등[19]이나 Nakanishi 등[10,20]이 제안한 것이 있지만, 이들에 따르면 기관 상피세포의 두께나 기관 연골 세포의 변화와 같은 일부 조직 소견만을 대상으로 하였을 뿐으로 아직 보편적으로 확립된 것이 아니고, 기관 이식편의 전반적인 생육성을 평가하는 데 있어 제한점을 보였다. 따라서 본 연구에서는 기관 이식편의 전체적인 조직학적 변화를 대상으로 새로운 조직학적 기준을 설정해야 할 필요성이 있어(Table 1) 기관 이식편의 생육성과 밀접한 관련이 있는 기관 평활근 및 결합 조직, 기관 연골, 혈관 형성의 변화를 관찰하고, 조직학적 변화의 정도를 평가할 수 있는 새로운 평가 기준을 제시하였다.

## 결 론

초냉동 보관된 장분절 기관 이식편을 대망 내 이식하여 조직의 생육성과 혈관 형성을 평가한 결과 초냉동 보관된 기관 이식편을 장기간 대망 내 이식하는 것은 조직의 생육성 및 혈관 형성에 도움이 되지 않았고, 기관 이식편을 2주간 대망 내 이식하면 기관 이식편의 염증 소견이나 섬유화 정도 등이 심하지 않으면서 기관 평활근이 비교적 적절하게 유지될 수 있고, 기관 연골간 간격에 혈관 형성이 충분히 이루어졌다. 결론적으로 백서의 초냉동 보관된 기관 이식편의 기관 이식을 고려할 때 기관이식편을 2주간 대망 내 이식한다면 적절한 조직 생육성을 유지하면서 새로운 혈관 형성이 충분히 일어날 수 있다. 또한 본 연구 결과에서 보인 전반적인 기관 연골의 석회화에 관한 문제점을 극복할 수 있다면 향후 동종 기관 이식을 시행할 때 초냉동 보관된 기관 이식편을 대망 내 이식하여 충분한 혈관 형성이 이루어진 후 단계적인 기관 이식을 시행할 수 있는 가능성을 보여 주었다고 생각한다.

## 참 고 문 헌

1. Grillo HC. *Tracheal replacement: a critical review.* Ann Thorac Surg 2002;73:1995-2004.
2. Jacobs JP, Quintessenza JA, Andrews T, et al. *Tracheal allograft reconstruction: the total North American and worldwide pediatric experiences.* Ann Thorac Surg 1999;68:1043-52.
3. Neville WE, Bolanowski PJP, Soltanzadeh H. *Prosthetic reconstruction of the trachea and carina.* J Thorac Cardiovasc Surg 1976;72:525-38.
4. Levashev YN, Akopov AL, Mosin IV. *The possibilities of greater omentum usage in thoracic surgery.* Eur J Cardiothorac Surg 1999;15:465-8.
5. Nakanishi R, Yasumoto K, Shirakusa T. *Short-course immunosuppression after tracheal allotransplantation in dogs.* J Thorac Cardiovasc Surg 1995;109:910-7.
6. Yokomise H, Inui K, Wada H, et al. *High-dose irradiation prevents rejection of canine tracheal allografts.* J Thorac Cardiovasc Surg 1994;107:1391-7.
7. Bujia J, Wilmes E, Hammer C, Kastenbauer E. *Tracheal transplantation: demonstration of HLA class II subregion gene products on human trachea.* Acta Otolaryngol 1990;10:49-54.
8. Mabrut JY, Adham M, Bourgeot JP, et al. *Mechanical and histological characteristics of human trachea before and after cryopreservation: an opportunity for tracheal tissue banking.* Transplant Proc 2001;33:609-11.



9. Aoki T, Yamato Y, Souma T, et al. *Successful tracheal transplantation using cryopreserved allografts in a rat model.* Eur J Cardiothorac Surg 1999;16:169-73.
10. Nakanishi R, Shirakusa T, Mitsudomi T. *Maximum length of tracheal autografts in dogs.* J Thorac Cardiovasc Surg 1993; 06:1081-7.
11. Lima O, Goldberg M, Peters WJ, Ayabe H, Townsend E, Cooper JD. *Bronchial omentopexy in canine lung transplantation.* J Thorac Cardiovasc Surg 1982;83:418-21.
12. Morgan E, Lima O, Goldberg M, et al. *Improved bronchial healing in canine left lung reimplantation using omental pedicle flap.* J Thorac Cardiovasc Surg 1983;85:134-9.
13. Neville WE, Bolanowski PJP, Soltanzadeh H. *Homograft replacement of the trachea using immunosuppression.* J Thorac Cardiovasc Surg 1976;72:596-601.
14. Pearson FG, Goldberg M, Stone RM, Colapinto RF. *Bronchial arterial circulation restored after reimplantation of canine lung.* Can J Surg 1970;13:243-50.
15. Lopez-Rivero L, Quevedo S, Freixinet J, et al. *Experimental tracheal revascularization with omentum.* Eur J Cardiothorac Surg 1993;7:540-2.
16. Meryman HT, Williams RJ, Douglas MST. *Freezing injury from "olution effects" and its preservation by natural or artificial cryopreservation.* Cryobiology 1977;14:287-302.
17. Bank HL, Brockbank KGM. *Basic principles of cryobiology.* J Cardiac Surg 1987;2:137-43.
18. Balderman SC, Weinblatt G. *Tracheal autograft revascularization.* J Thorac Cardiovasc Surg 1987;94:434-41.
19. Macchiarini P, Mazmanian GM, Montpreville VT, et al. *Maximal preservation time of tracheal allografts.* Ann Thorac Surg 1995;60:1597-604.
20. Nakanishi R, Nagaya N, Yoshimatsu T, Hanagiri T, Yasumoto K. *Optimal dose of basic fibroblast growth factor for long segment orthotopic tracheal autografts.* J Thorac Cardiovasc Surg 1997;113:26-36.

=국문 초록=

배경: 대망의 가장 중요한 성질 중 하나인 혈관 형성 촉진 기능을 이용하여 초냉동 보관된 기관 이식편의 대망 내 이식이 기관 이식편의 생육성이나 혈관 형성에 미치는 영향을 연구하고자 한다. 대상 및 방법: 8주령의 Sprague Dawley rat 수컷의 초냉동 보관된 기관 이식편을 백서의 복강 내 대망에 이식하였다. 연구군은 냉동 보관기간과 대망 내 이식기간에 따라 4개의 군으로 분류하였다(n=52). 이식된 기관 이식편을 획득하여 기관 평활근 및 주변 결합 조직의 섬유화 및 염증 정도, 기관 연골의 석회화 정도, 기관 내 상피세포의 변화 및 연골간 간격에서의 혈관 형성 정도 등을 검사하였다. 결과: 기관 평활근의 염증 정도는 냉동 보관기간이나 대망 내 이식기간에 따라 유의한 차이를 보이지 않았고, 기관 연골의 석회화 정도는 냉동 보관기간과 상관없이 대부분 심하게 진행되어 있었다. 혈관 형성은 기관 이식편의 양 끝뿐만 아니라 중간 부위에서도 충분히 이루어져 있었다. 결론: 초냉동 보관된 백서의 장분절 기관 이식편을 2주간 대망 내 이식을 시행한 결과 기관 이식편의 조직 생육성이 적절히 유지되면서 새로운 혈관이 형성되었다. 향후 동종 기관 이식 시 초냉동 보관된 기관 이식편을 대망 내 이식하여 새로운 혈관이 형성된 후 단계적으로 기관 이식을 시행하는 데 도움이 될 수 있다고 생각한다.

- 중심 단어 : 1. 생육성  
2. 동종 이식  
3. 대망  
4. 냉동 보관  
5. 기관 이식