

이종 조직판막 도관 혹은 판막 이식술 직후 면역 글로불린 항체 G, M의 혈중 농도 변화

곽재건* · 유재석* · 윤선희* · 김웅한*,** · 김경환*,** · 김용진*,**

Serum Immunoglobulin G and M Level after Xenograft Valve or Valved Conduit Implantation

Jae Gun Kwak, M.D.*, Jae-Suk Yoo, M.D.*, SunHee Yoon, R.N.*, Woong-Han Kim, M.D.*,**,
Kyung-Hwan Kim, M.D.*,**, Yong-Jin Kim, M.D.*,**

Background: The aim of this study is to confirm that peripheral blood sampling for measuring of serum immunoglobulin can predict immunological changes after xenograft implantation. **Material and Method:** Between March 2006 and January 2007, 19 patients were enrolled (10 xenograft implantation group, 9 control group). Through 3 peripheral blood samples, we measured changes in serum immunoglobulin G and M levels preoperatively, and 2 and 10 days postoperatively. **Result:** In both groups, serum immunoglobulin levels showed similar changes-they decreased 2 days postoperatively, then increased up to the baseline levels 10 days postoperatively. However, this postoperative change of immunoglobulin G and M was not significantly different in absolute value or pattern between the 2 groups (Ig G; p-value=0.393, Ig M; p-value=0.193). **Conclusion:** We could not predict immunological changes after xenograft implantation by measuring serum immunoglobulin levels by simple blood sampling. Direct checking of α -Galactose antibody may confirm an immunological reaction after xenograft implantation.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2008;41:223-228)

- Key words:** 1. Xenograft
2. Immune response
3. Heart valve prosthesis
4. Conduits

서 론

선천성 심혈관 기형이나 후천적 심혈관 판막 질환의 수술적 치료를 위해 이종 조직판막 혹은 이종 조직판막 도관의 사용이 늘어남에 따라 이들 이종 장기의 내구성 및 수명에 대한 관심도 같이 늘고 있다. 이러한 이종 보철장기의 기능과 수명을 개선하기 위하여 여러 가지 연구들이 진행되고 있으며 이의 결과들이 임상에 적용되고 있는 상황이다.

소아 연령 군에서의 이종 조직판막, 도관은 성인에 비하여 그 퇴행 속도가 더 빠르기 때문에 수명이 더 짧고, 환자의 성장에 따른 도관의 상대적인 협착도 문제가 되고 있다[1]. 환자의 성장에 따라 발생하는 상대적 협착을 해결하기 위한 재수술은 이종 조직판막이 환자과 함께 성장하지 않는 한 피할 수 없는 문제이나, 환자의 체표면적이나 체중을 고려하였을 때, 여전히 사용 가능한 크기의 판막 혹은 도관임에도 불구하고 빠른 퇴행성 변화에 의하여 협착, 판막 역류 등이 발생하여 재수술이 필요하게 된 경

*서울대학교병원 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Seoul National University, Seoul National University Hospital

**서울대학교병원 바이오 이종장기 개발 사업단

Seoul National University Hospital, College of Medicine, Xenotransplantation Research Center

†본 연구는 바이오 이종장기 개발 사업단과 보건복지부 보건의료 기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(과제고유번호: A040004).

논문접수일 : 2007년 11월 9일, 심사통과일 : 2007년 12월 11일

책임저자 : 김용진 (110-769) 서울특별시 종로구 연건동 28, 서울대학교병원 어린이병원 흉부외과

(Tel) 2072-3638, (Fax) 745-5209, E-mail: kyj@plaza.snu.ac.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

우, 이종 조직판막에 대한 다른 면역학적, 화학적 처리 과정을 통하여 그 재수술의 시기를 늦출 수 있을 것으로 기대된다. 특히 돼지로부터 추출, 가공한 이종조직 판막의 이식수술 시에 발생하는 α -Galactose (α -Gal)과 α -Gal 특이 면역 글로블린의 면역 반응은 급성 거부 반응 및 판막의 퇴행성 변화를 일으키는 중요한 요인으로 알려져 있어 [2], α -Gal 특이 면역 글로블린 M, G에 대한 면역학적 처리 방법들이 활발하게 연구되고 있다. 본 연구는 이러한 glutaraldehyde 등의 생화학적 처리 이후 이식한 이종 판막이 환자의 체내에 일으키는 면역 글로블린의 반응 여부와 정도를 혈중 농도를 통하여 알아볼 수 있을 것인가에 대한 예측 연구로서, 현재 상용되는 상업화된 이종 장기를 사람에게 이식하였을 때 일반적인 혈액 검사를 통하여 얻어진 α -Gal 특이 면역 글로블린 M, G의 이식 수술 전후 혈중 농도가 이종 장기가 이식되지 않은 수술을 시행 받은 환자들의 혈중 농도와 차이가 있는지 알아봄으로써, 일반적인 혈액 검사 방법을 통하여 면역 글로블린을 통한 면역 반응의 정도를 예측할 수 있는지, 이를 통하여 일반적인 혈중 농도를 위한 혈액 검사가 유용성을 가질 수 있는지 알아보고자 전향적 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

2006년 3월부터 2007년 1월까지 19명의 인공 심폐기를 사용하여 개심술을 시행 받은 환자를 대상으로 전향적 연구를 시행하였다. 환자의 평균 나이는 10.3 ± 9.1 세, 체중은 31.4 ± 20.3 kg이었다. 19명의 환자 중 10명은 이종 판막, 혹은 이종 판막을 포함하고 있는 도관을 이식 받은 수술을 시행 받은 환자들로서 실험군으로 배정하였고, 나머지 9명은 이종 장기가 전혀 들어가지 않는 수술을 시행 받은 환자들로서 대조군으로 설정하였다.

실험군에 포함된 환자들의 진단은 활로써 사징증(5), 양대혈관 우심실 기시(1), 온전한 심실 중격을 가진 폐동맥 판막 무형성증(1), 심실 중격 결손을 가진 폐동맥 판막 무형성증(1), 총동맥간(1), 폐동맥 협착(1) 등이었고, 이들에 대하여 Rastelli 술식이 2건, 폐동맥 판막 치환술이 8건 시행되었다. Rastelli 술식에 사용된 도관은 Carpentier Edward valved conduit과 Dacron graft에 St. Jude Biocor 판막을 넣어 만든 도관이 사용되었으며, 이식에 사용된 이종 판막은 St. Jude Biocor (6), Carpentier Edward perimount (2), Carpentier Edward Magna (1) 등이었다. 실험군에 속한 환자들 중 4명은 수술 전 이종 판막, 도관이 없는 상태였으

나 나머지 6명은 이미 한 차례 이상 이종 판막과 도관을 삽입하는 수술을 시행 받은 병력이 있는 환자들로 이전의 이종 장기에 협착 및 기능 부전이 생겨 재수술을 시행 받았다.

한편 대조군의 진단은 매우 다양하여, 단심실증(1), 대혈관 전위증(1), 대동맥 축착증(1), 폐정맥 협착증(1), 심방 중격 결손 (2), 방실 중격 결손 (2), 대동맥 판막 협착증 등이었고, 이에 대하여 폰탄 술식(1), 좌측 관상동맥 위치 이동(1), 대동맥 축착증 교정술(1), 폐정맥 협착 부위 교정술(1), 심방 중격 결손 폐쇄술(2), 방실 중격 결손 완전 교정술(1), 승모판막 성형술(1), 대동맥 판막 성형술(1) 등으로 질환에 따라 다양한 수술을 시행하였다. 그러나 실험군과는 달리 대조군에서는 이종 판막, 도관 등의 이종 조직판막이나 가공된 이종장기는 전혀 이식되지 않았다.

이들 환자를 대상으로, 수술 전, 수술 후 2일째, 10일째에 혈액 샘플링을 통하여 면역 글로블린 M, G의 혈중 농도를 얻어내었다. 얻어진 혈중 농도를 통해, 먼저 수술 이전에 이미 이종 장기를 이식 받고 있었던 환자들과 그렇지 않았던 환자들 간의 비교 분석을 통하여 면역 글로블린의 수술 전 기저치에 차이가 있는지, 그리고 수술 후 면역 글로블린의 혈중 농도 변화에 영향을 주었는지 통계학적으로 분석하였으며, 이후 실험군과 대조군 간에 수술 후 면역 글로블린의 혈중 농도 변화에 차이가 있는지를 통계학적으로 분석하였다.

결 과

실험군과 대조군의 평균 연령은 각각 10.6 ± 5.9 세, 9.9 ± 12.2 세(p-value=0.315), 체중은 36.7 ± 20.9 kg, 25.5 ± 18.9 kg (p-value=0.278)로 양 군 간에 차이는 없었다. 다양한 종류의 진단과 그에 따른 여러가지 수술 방법이 사용되었으나, 수술 시 사용된 인공 심폐기 가동 시간도 실험군 162.5 ± 37.6 분, 대조군 114.8 ± 69.8 분으로 양 군 간에 통계적인 유의한 차이는 없었다(p-value=0.095).

양쪽 군에서 관찰되는 면역 글로블린의 혈중 농도의 변화를 알아보기에 앞서, 이전 수술을 통하여 이종 장기의 물질이 들어가 있는 환자들과 그렇지 않은 환자들 사이에 면역 글로블린의 기저치에 차이가 있는지의 여부에 대하여 먼저 관찰하였다. 총 19명의 같은 환자군에서 수술 전에 이종 장기의 물질이 들어가 있는 환자는 모두 13명이었고, 이종 장기가 이식되어 있지 않았던 환자는 6명이었다. 비교한 결과 IgG의 경우 p-value=1.00, IgM의 경우

Table 1. Blood concentration of immunoglobulin G, M

		Preop	POD#2	POD#10	p-value
Ig G	Group 1	1091.4±372.4	777.9±167.9	1078.6±274.8	0.393
	Group 2	1050.1±296.2	767.3±199.1	879.4±154.2	
Ig M	Group 1	108.2±50.0	85.0±36.3	159.6±53.8	0.193
	Group 2	83.8±33.6	66.6±35.3	125.0±50.2	

Ig G=Immunoglobulin G; Ig M=Immunoglobulin M; Preop=Preoperative; POD=Postop day; Group 1=Xenograft implantation group; Group 2=Control group.

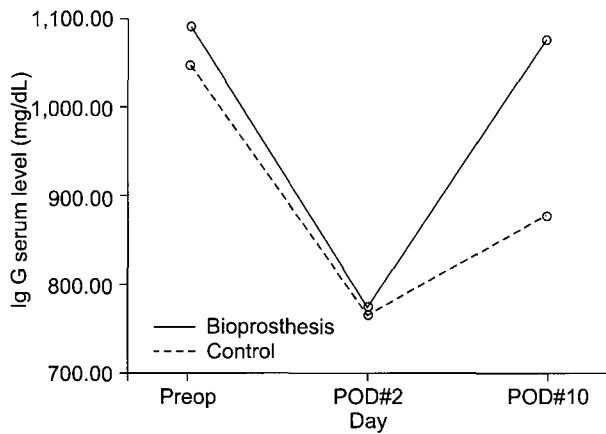


Fig. 1. Immunoglobulin G.

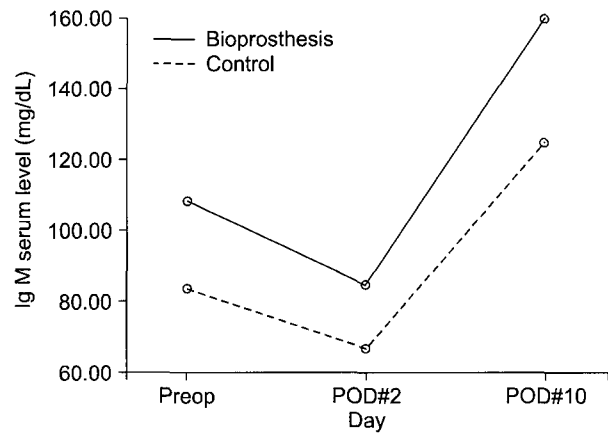


Fig. 2. Immunoglobulin M.

p-value=0.898로, 이진 수술 시 이종 장기가 들어있는지의 여부는 환자의 혈중 면역 글로불린 농도에 큰 차이를 보이지 않았다. 또한 이러한 분류를 근거로 하여 이미 이종 판막이 들어 있던 환자들이 수술 후 혈중 면역 글로불린의 변화에 영향을 미치는지 변화 양상에 대한 분석을 통하여 알아보았으나, 역시 같은 변화의 정도와 경향을 보임으로서 별다른 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다(IgG; p-value=0.328, IgM; p-value=0.836).

기저치에 차이가 없음을 확인한 후 실험군과 대조군에서 수술 전, 수술 후 2일, 수술 후 10일째에 혈액 샘플링을 시행하였다. 이를 통하여 얻은 IgG, IgM의 값 및 변화하는 양상은 Table 1 및 Fig. 1, 2로 나타내었다. IgG, IgM 모두, 각 군 간에 수술 전, 수술 후 2일째, 10일째에 절대적인 값에는 차이가 없었다(IgG; p-value=0.242, IgM; p-value=0.694).

실험군 안에서의 IgG의 경우, 수술 전 1091.4±372.4 mg/dL, 수술 후 2일째 777.9±167.9 mg/dL, 수술 후 10일째 1078.6±274.8 mg/dL로 군 안에서의 변화는 유의하게 일어나고 있었으며(p-value=0.002), IgM도 수술 전 108.2±50.0 mg/dL, 수술 후 2일째 85.0±36.3 mg/dL, 수술 후 10일째

159.6±53.8 mg/dL로 실험군 안에서의 변화는 유의하게 일어나고 있었다(p-value<0.001). 그러나 이러한 변화의 양상은, IgG, IgM의 경우 모두에서 실험군과 대조군 사이에 차이를 보이지는 않았다(IgG의 양 군에서의 비교; p-value=0.393, IgM의 양 군에서의 비교; p-value=0.193). 즉, IgG와 IgM의 혈중 농도는 이종 판막 이식 후 특정한 양상의 변화 경향을 보이기는 하지만, 이러한 변화는 이종 판막 이식을 하지 않는 수술을 시행 받은 환자에서도 마찬가지로 나타나고 있었다.

고 찰

이종 보철 장기의 선천성 심기형에의 이용은 심장 수술의 역사가 시작되면서 얼마 지나지 않아 보편화되기 시작하였다. 특히 판막 수술의 분야에 있어서 이종 조직 판막이 기계 판막에 비하여 갖고 있는 여러 가지 이점들, 즉, 항응고 치료가 필요하지 않다는 점, 보다 나은 혈액학적 특징을 보인다는 점, 심내막염이 판막을 침범한 환자에게 있어서의 이점 등을 이유로 그 사용례가 늘어나고 있다.

그러나 기계판막에 비하여 내구성과 수명이 짧은 단점 때문에 더 많은 범위의 환자들에게 이종 조직 판막을 사용하지 못하고 있다.

조직 판막의 수명은 주로 판막 자체의 구조에 퇴행성 변화가 일어나면서 생기게 되는 것으로 보고 있는데, 이는 끊임없는 심장 박동으로 인하여 필연적으로 생기게 되는 기계적 손상 외에도 조직 판막을 가공, 처리하는데 사용되는 각종 화학 물질에 의해 발생하는 염증 반응과 이종 장기와 환자 간에 발생하는 면역학적인 반응에 의해서 생기는 단백질의 파괴와 석회화 과정 등을 들 수 있다. 또한 염증 반응 후에 발생하는 이종 장기 판막 주위의 환자의 자연 조직이 증식하게 되어 발생하는 판누스(pannus) 증식은 비단 조직 판막뿐 아니라 기계 판막의 수명에도 심각한 영향을 주고 있다. 최근에는, 포유류로부터 추출, 가공된 이종 장기에도 여전히 동물의 이종 항원인 α -Galatose의 항원 결정 인자(epitope)가 남아 있어 이것이 환자에게 이식되고 난 후 환자의 몸에 이 α -Galatose epitope에 대항하는 항체의 수치가 증가한다는 보고가 있어 면역 반응에 의한 이종 조직 판막의 퇴행성 변화가 주목을 받고 있다 [2-5]. 이에 따라 많은 연구자들이 α -Galatose epitope를 제거하여 이식 후에 생기는 면역 반응을 줄여 판막의 수명을 늘리려는 연구를 하고 있다 [6-10]. 이러한 시점에서 환자 체내에서 일어나고 있는 이종 장기 이식에 따른 면역 반응을, 환자들의 혈액 채취라는 간단한 방법을 통하여 복잡하지 않은 절차로서 알아낼 수 있다면 그것은 매우 연구자들에게 도움이 될 만한 것으로 생각된다. 이에 저자들은, 이 연구를 통해서 면역 글로불린의 혈중 농도 변화를 단순 혈액채취를 통하여 수술 전후 그 변화를 측정하여 α -Gal 특이 면역 글로불린의 변화를 가늠할 수 있는지를 알아보려고 하였다. 결과에서 제시한 바와 같이 대조군과 실험군 내에서 각각의 면역 글로불린은 일정한 경향을 보이면서 변화하였다. IgM, IgG 모두 수술 전의 기저치에 비하여 수술 후 2일째 감소하였다가 시간이 흐를수록 다시 증가하였다. 다만 IgG의 경우에는 수술 후 10일째가 되어도 기저치에는 못 미치는 반면, IgM의 경우 수술 전의 기저치를 웃도는 수치까지 증가하였다. 그러나 이러한 변화의 양상 및, 각각의 면역 글로불린이 보이고 있는 절대치는 대조군과 실험군에서 통계학적으로 의미 있는 차이를 보이지 않았다. 이것은 이전까지의 연구에서 밝혀진 면역반응에 의한 α -Gal 관련 면역 글로불린이 보이는 일련의 현상, 즉 이식 후 그 반응이 증가하여 초급성 면역 거부 반응을 일으키는 데 중요한 역할을 한다는 결과에

상반되는 결과였다. 오히려, 수술 직후(2일째)에 IgM, IgG의 혈중 농도가 오히려 기저치에 비하여 떨어졌는데, 이는 인공 심폐기의 가동에 의해 충전액의 효과에 의하여 오히려 그 농도가 감소하는 것처럼 나타나는 것이라고 생각한다.

이후 환자가 회복하면서 혈색소 수치가 증가함에 따라 면역 글로불린의 농도가 같이 증가하여 수술 후 10일 정도가 되었을 때는 기저치에 가까워지거나, 넘어서는 양상을 보였는데, 이는 앞서 세웠던 가설과 같은 맥락에서 인공심폐기의 충전액에 의한 희석 효과가 점차 감소하는 것이라고 생각되었다. 이러한 가설을 검증하기 위해서는 추후 인공 심폐기의 충전액의 용량을 줄인 상태에서의 혈중 농도를 살펴보아야 할 것이다. 상기의 여러가지 결과에 대한 해석을 통하여, 면역 글로불린의 혈중 농도 변화를 단순한 혈액 샘플로서 측정하는 것은 문제가 있음을 알 수 있었고, 면역학적인 변화에 상응하는 면역 글로불린의 농도 변화를 확인하고 측정하기 위해서는 다른 방법이 필요할 것임을 알 수 있었다. 더욱이 실제 이종 동물 항원에 대한 항체는 IgM 과 IgG의 isotype에 주로 있으며 전체 면역글로불린의 약 1~2%에 해당하는 소량으로서 이종보철 판막의 이식 후 이종동물항원인 α -Galactose에 대한 강력한 항체면역반응이 일어나서 이것에 대한 항체가 유의한 증가를 하더라도 전체적으로 변화하는 분율에 비하여 작은 폭으로 변화하게 될 경우, 본 연구에서와 같은 혈중 농도 측정으로는 그 미세한 변화를 알아내기 어려울 것이라고 생각한다.

결 론

연구 결과, 지금까지의 연구들에 의하여 알려진 바와는 달리 이종 장기를 이식하고 난 후 혈액 채취를 통한 혈중 농도 변화는, 이종 장기 이식을 하지 않는 수술을 받은 환자와 차이가 없었다. 이것은 면역 글로불린의 혈중 농도 변화가 양 군 간에 차이가 없다고 해석하기 보다는, 일상적인 혈액채취를 통한 면역 글로불린의 혈중 농도 측정으로는 면역 글로불린의 면역학적인 변화를 측정하기 힘들다고 보는 것이 옳을 것으로 생각한다. 따라서 이종 보철 장기 이식 후의 이종동물항원에 대한 체내의 면역학적 변화에 따른 농도 변화를 관찰하기 위해서는 일상적인 혈액 채취 방법을 통한 면역글로불린의 측정보다는, 직접적인 α -Galactose에 대한 항체의 측정이 필요할 것으로 생각되어 추후 지속적인 연구가 필요하다.

참 고 문 헌

1. Jamieson WRE, Rosado LJ, Munro AI, et al. *Carpentier? Edwards standard porcine bioprosthesis: primary tissue failure (structural valve deterioration) by age groups.* Ann Thorac Surg 1988;46:155-62.
2. Konakci ZK, Bohle B, Blumer R, et al. *α -Gal on bioprosthesis: xenograft immune response in cardiac surgery.* Eur J Clin Invest 2005;35:17-23.
3. Galili U, Clark MR, Shohet S, Buehler J, Macher BA. *Evolutionary relationship between the natural anti-Gal antibody and the Gal (alpha1-3) Gal epitope in primates.* Proc Natl Acad Sci USA 1987;84:1369-73.
4. Galili U, Shohet S, Kobrin E, Stults CLM, Macher BA. *Man, apes, and old world monkeys differ from other mammals in the expression of alpha-galactosyl epitopes on nucleated cells.* J Biol Chem 1988;263:17755-62.
5. Oriol R, Ye Y, Koren E, Cooper DKC. *Carbohydrate antigens of pig tissues reacting with human natural anti-bodies as potential targets for hyperacute vascular rejection in pig-to-man organ transplantation.* Transplantation 1993; 56:1433-42.
6. LaVecchio JA, Dunne AD, Edge ASB. *Enzymatic removal of alphagalactosyl epitopes from porcine endothelial cells diminishes the cytotoxic effect of natural antibodies.* Transplantation 1995;60:841-7.
7. Stone KR, Ayala G, Goldstein J, Hurst R, Walgenbach A, Galili U. *Porcine cartilage transplants in the cynomolgus monkey: III Transplantation of α -galactosidase treated porcine cartilage.* Transplantation 1998;65:1577-83.
8. Luo Y, Wen J, Luo C, Cummings RD, Cooper DKC. *Pig xenogeneic antigen modification with green coffee bean α -galactosidase.* Xenotransplantation 1999;6:238-48.
9. Phelps CJ, Koike C, Vaught TD, et al. *Production of (alpha) 1,3-galactosyltransferase deficient pigs.* Science 2003;299:411-4.
10. Dai Y, Vaught TD, Boone J, et al. *Targeted disruption of the α 1,3-galactosyltransferase gene in cloned pigs.* Nature Biotechnol 2002;20:251-5.

=국문 초록=

배경: 동물조직의 생체조직이식시 이종항원 물질인 알파-갈(α-Galactose) 항원결정인자에 대한 환자의 면역반응에 많은 관심이 높아지고 있다. 이에 이종 판막 이식 후 체내에서 α-Galactose에 대하여 면역반응이 발현하는 것으로 알려져 있는 면역글로블린 G, M (IgG, IgM)의 변화를 일반적인 혈액 검사에 의한 혈중 농도를 측정하여 면역반응의 정도를 예측할 수 있는지 알아보려고 하였다. 대상 및 방법: 2006년 3월부터 2007년 1월까지, 개심술 환자를 대상으로 하여(이종 판막 이식 환자(실험군, 10명), 이종 장기가 이식되지 않은 환자(대조군, 9명)) 전향적 연구를 시행하였다. 환자의 나이는 10.3±9.1세, 체중은 31.4±20.3 kg이었다. 환자들에게서 수술 전, 수술 후 2일째, 수술 후 10일째에 일반적인 혈액 채취를 통하여 IgM, G의 혈중 농도를 측정하였다. 수술 이전에 이종 장기가 이식되어 있던 환자들과 그렇지 않았던 환자들을 비교하여 면역 글로블린의 수술 전 기저치에 차이가 있는지, 그리고 이러한 이전의 상태가 수술 후 면역 글로블린의 혈중 농도 변화에 영향을 주었는지 통계학적으로 분석하였으며, 얻어진 혈중 농도로 두 군 간에 수술 후 면역 글로블린의 혈중 농도 변화와 정도에 차이가 있는지를 통계학적으로 분석하였다. 결과: 술전 이종 장기가 이식되어 있던 환자들과 그렇지 않은 환자들 사이에 면역글로블린의 혈중 농도에는 차이가 없었다(IgG; p-value=1.00, IgM; p-value=0.898). IgG, M 모두 실험군과 대조군 각 군 내에서 수술 전에 비하여 수술 후 2일째 혈중 농도가 감소하였다가 이후 다시 증가하는 일정한 변화의 경향을 보였고, 그 변화 정도가 시간에 따라 통계학적으로 의미있게 달라졌다. 그러나 실험군과 대조군 사이에는 그 변화의 정도, 경향에 의미있는 차이가 없었다(IgG; p-value=0.393, IgM; p-value=0.193). 결론: 이종조직 판막이식 후 혈액 채취를 통해 얻은 혈중 농도 변화는 이종조직판막 이식을 하지 않는 수술을 받은 환자와 차이가 없었다. 이것은 면역 글로블린의 혈중 농도 변화 정도가 술 후 양 군 간에 차이가 없다기보다는, 일상적인 혈액 채취를 통한 면역 글로블린의 혈중 농도 측정으로는 면역 반응에 의한 면역 글로블린의 변화를 측정하기 어렵기 때문이라고 생각한다. 따라서 이종조직판막이식 후의 이종동물항원에 대한 면역반응의 체내 변화를 관찰하기 위해서는 직접적인 α-Galactose에 대한 항체의 측정이 필요할 것으로 생각한다.

- 중심 단어 : 1. 이종이식
2. 면역 반응
3. 이종판막
4. 이종도관