Warm Ischemic Time에 따른 냉동보존돼지판막의 세포생존율

박 영 환* ·윤 치 순* ·이 종 은** ·장 병 철* ·박 종 철**
서 활** ·조 범 구*

=Abstract=

Cellular Viability of Cryopreserved Porcine Valve According to Warm Ischemic Time

Young Hwan Park, M.D.*, Chee Soon Yoon, M.D.*, Chong Eun Lee, Ph.D.**, Byung Chul Chang, M.D. Ph.D.*, Chong Chul Park, Ph.D.**, Su Hwal, Ph.D.**, Bum Koo Cho, M.D. Ph.D.*

Background: Valve replacement using cryopreserved valved homograft is increasing because of resistance of infection and excellent hemodynamics. The viability of fibroblast which is related with warm ischemic time affects the durability of implanted cryopreserved valved homograft. We evaluated how long the warm ischemic time is acceptable by examining the viability of cells depending upon warm ischemic time. ***Material and Method:*** 1. Retrieval of tissues; Thirty-two slaughted porcine heart and lung enblocs were stored at refrigerator(4 8℃) for various time period(Warm Ischemic Time), and the heart was dissected and stored in Hartman solution at 4℃ for 24 hours(Cold Ischemic Time) as the simulation of retrieval and dissection of human heart. The hearts were assigned to groups A(2 hours), B(12 hours), C(24 hours), D(36 hours) depending on warm ischemic time. 2. Sterilization; The valved homografts were sterilized in the RPMI 1640 solution with antibiotics. 3. Freezing and Storage; The homografts were freezed by computerized freezer, stored 7 days at liquid nitrogen tank, and thawed. 4. Evaluation of the viability; The viability was evaluated by Triphan blue test after warm ischemic time, after cold ischemic time and after thawing. 5. Analysis; The viability of fibroblast was analysed by pearson correlation test of SAS program. ***Result:*** 1. The viability between after cold ischemic time and after thawing was not different($p=0.619$) for the adequacy of sterilization, freezing and thawing. 2. The viability which was evaluated after warm ischemic time, cold ischemic time and thawing, and the various warm ischemic times are strongly correlated as R is -0.857, -0.673 and -0.549 respectively. The viability of tricuspid valve is well related with the viability of aortic valve.

*연세대학교 의과대학 심장혈관센타연구소, 흉부외과학교실
Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Yonsei University, College of Medicine, Cardiovascular Center Research Institute
*연세대학교 의과대학 심장혈관센타연구소, 의학공학교실
Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Yonsei University, College of Medicine, Department of Medical Engineering
†논문은 보건복지부 보건의료기술연구개발연구사업(연구번호: HMP-96-G-2-45)에 의한 결과임
논문접수일 : 2000년 10월 23일 심사통과일 : 2001년 2월 20일
책임저자 : 박영환(120-752) 서울시 서대문구 신촌동 134번지, 연세대학교 의과대학 심장혈관센타 흉부외과. (Tel) 02-361-7283
(Fax) 02-313-2992, E-mail: yhpark@yumc.yonsei.ac.kr

대흉외지
2001:34:305-10

Conclusion: 1. The longer the warm ischemic time, the lesser the viability of fibroblast. The viability of fibroblast after cryopreservation was decreased less 60% if the warm ischemic time was over 12 hours. 2. The method of cryopreservation is acceptable for maintaining the viability of fibroblast, and the viability of tricuspid valve may be the indicator of the viability of aortic valve. 3. However, the study for the optimal viability which is necessary to the durabiltiy of implanted valved homograft is needed.

(Korean Thorac Cardiovasc Surg 2001;34:305-10)

Key word: 1. Transplantation, homolegous
2. Viability
3. Cryopreservation

서 론

심장판막질환의 치료시 사용되는 동종이식판막은 뇌사자나 사체에서 적출하여 처리 및 보관후 사용하고 있다. 이식수술시 동종판막의 섬유아세포의 생존율이 임상적인 내구성과 밀접한 관계가 있다[1-3]. 동종 이식된 판막은 세포외조직(extracellular matrix)을 보존할 수 있는 섬유아세포의 세포생존율(cellular viability)이 좋을수록 내구성이 좋은 것으로 생각하고 있다[4]. 적출방법, 온허혈시간, 냉허혈시간, 박리방법, 항생제처리방법, 냉동방법, 해동방법등에 따라 세포생존율에 차이를 보이므로 가장 세포생존율이 좋은 방법을 택해야 한다. 온허혈시간과 냉허혈시간은 방법의 개선으로 좋아지는 것이 아니므로 어느 정도의 허혈시간이 인정될 수 있느냐가 중요하다. 연세대학교심장혈관센타 연구소에서는 사망후 심장을 적출 하는 시간(Warm Ischemic Time)이 어디까지 허용되는 수준인지, 냉동보존의 각 처리작업후의 세포생존성이 어느 정도 보존되는지, 주로 사용하는 대동맥판막의 세포생존성과 잘 사용하지 않고 폐기하는 삼첨판막의 세포생존성이 얼마나 연관이 있는지 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

32마리의 돼지를 이용하였다. 도축장의 돼지는 평균 100 kg급의 1년생 돼지이다. 도축장에서 인간의 경우와 비슷한 환경을 만들기 위해 심장과 폐를 en bloc으로 절제하여 비닐봉지에 넣고 4°C의 냉장고에 2시간(Group A), 12시간(Group B), 24시간(Group C), 36시간(Group D) 보관하였다가 세포생존율을 검사하였고 심장만을 박리 하여 24시간 다시 보관하였고 이후 세포생존율검사를 한 후에 판막을 박리해서 24시간 항생제 용액에 담가 4°C 냉장고에서 보관멸균 한 후에 computerized freezer를 이용하여 초저온냉동(Cryopreservation)을 하였다. -100°C가 되면 액체질소통(-196°C)에 약 1주일간 보관하였다가 해동시킨 후 다시 세포생존율검사를 하였다. (Fig. 1) 세포생존율 검사는 처음에는 좌관상동맥측 대동맥판엽을 절제하여 검사하였고(WIT viability), 냉허혈시간 후에는 관상동맥입구가 없는 쪽 대동맥판엽을 사용하였고(CIT viability) 냉동보존 후 해동한 판막에서는 나머지 우관상동맥측 대동맥판엽을 사용하여(Thawing viability) 검사하여 동일판막에서의 비교가 가능하게 하였다.

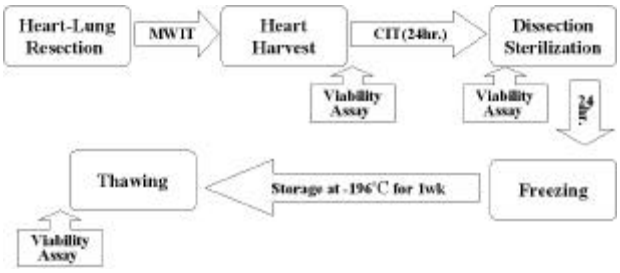

Fig. 1. Study Design

동종이식에서 온허혈시간(Warm Ischemic Time)이란 사망한 환자의 심장마비에서부터 심장을 적출할때까지의 시간이다. 대부분 환자는 사망한 후로부터 냉장고에 들어가기 때문에 약 4°C의 온도가 유지된다. 냉허혈시간(Cold Ischemic Time)이란 적출된 심장에서 판막을 박리할 때까지의 시간으로 역시 약 4°C의 온도가 유지된다. 즉 사망한 환자가 있다는 연락을 받고 적출팀이 심장을 적출할 때까지가 온허혈시간이며 이 심장을 연구소로 갖고 와서 판막을 박리해 낼 때까지가 냉허혈시간이나 냉온의 온도와는 상관이 없다.

En Bloc으로 폐와 심장을 절제한 후에는 아무 용액이 없이 그냥 냉장 보관하였고 여기에서 심장을 적출한 후에는 Hartman's solution(Choongwae Pharmacies Co. Seoul, Korea)에 담가 두었고 판막을 박리한 후에는 RPMI 1640 medium에 항생제용액(cefoxitin 240 μg/ml, lincomycin 120 μg/ml, polymycin 100 μg/ml, vancomycin 50 μg/ml)을 섞어 24시간 4°C에서 멸

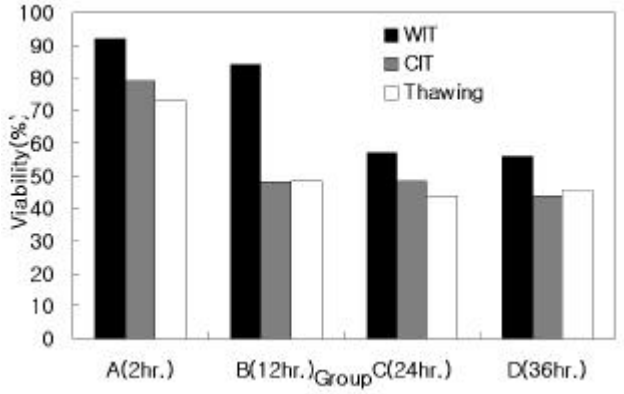

Fig. 2. Viability of aortic valve related with warm ischemic time.

Table 1. Viability of aortic valve related with warm ischemic time

warm ischemic time	Viability(%)(Mean±SD)		
Group	Warm ischemic period	Cold ischemic period	Thawing
A(2 hrs.)	92.1±2.9	78.5±8.4	72.9±14.2
B(12 hrs.)	84.9±7.2	48.1±16.1	50.4±22.7
C(24 hrs.)	57.0±10.9	48.4±6.8	44.0±5.9
D(36 hrs.)	55.9±8.4	43.7±6.8	45.6±6.0

Table 2. Correlation warm ischemia time with viability after WIT, CIT and Thawing.

Viability	Correlation with WIT	
	R	P
after WIT	-0.857	0.0001
after CIT	-0.673	0.0001
after Thawing	-0.54	0.0001

WIT, warm ischemic time; CIT, cold ischemic time

균 처리하였다. 이후 냉동보존용 백에 넣고 냉동액(RPMI 1540 medium, 10% fetal bovine serum, 10% Dimethylsulfoxide)과 함께 밀봉한 후 Programmed Computer Freezer(IceCube 1810, Sy-Lab, Purkersdorf, Austria)를 이용하여 -100°C까지 냉동시킨 후 액체질소통(MVE, Cryogenics, Minneapolis, MI, USA)에 넣어 1주일간 보관하였다[5,6]. 1주일 후에 다시 꺼내어 40°C의 warm bath에서 녹인 후 Dimethylsulfoxide(DMSO)의 세포독성을 막기 위해 순차적으로 희석시켰다. 대동맥판막과 삼첨판막의 세포생존성이 서로 연관이 있는지 알아보기 위해 삼첨판막의 세포생존율도 각 단계마다 측정하였다. 세포의 생존율은 다음의 방법으로 측정하였다. 판막엽을 Eagle's minimum essential medium(Eagle's MEM, Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)에 0.5% type II collagenase(350 units/mg solid, Sigma, St. Louis, MO, USA)를 넣은 용액에 37°C에서 5분간 담가두었다. 내피세포(endothelial layer)는 cell scraper로 부드럽게 긁어서 없애고 조직은 가위로 잘게 자른 후 PBS solution(phosphate buffered saline)으로 세척하였다. 조직의 조각을 다시 0.5% type II collagenase가 들어있는 Eagle's MEM 에 넣고 37°C에서 30분간 shaking incubator에서 배양하였다. 이것을 다시 Eagle's MEM으로 희석하고 300 rpm으로 5분간 원심 분리하였다. 부유층을 다시 1000 rpm에서 5분간 원심분리하고 Eagle's MEM으로 희석하였다. Trypan blue solution(Gibco BRL, Grand Island, NY, USA) 0.4% 50 μl를 세포현탁액 50 μl에 첨가하면 세포 수는 ml당 2×105 에서 106개가 된다. Trypan blue에 염색되지 않은 세포의 수를 Hematocytometer를 이용하여 광학현미경으로 관찰하여 확인하였다. 섬유아세포의 세포생존성은 전체 세포 수에서 염색된 생존하지 못한 세포 수를 뺀 것을 분자로 하고 전체세포 수를 분모로 하여 백분율로 표시하였다[7,8]. 통계분석은 SAS program을 사용하였고 섬유아세포의 세포생존율과 온허혈시간과의 관계는 One-way analysis of variance(ANOVA)를 사용하여 검사하였고 상관관계를 보기 위해 Pearson correlation test를 시행하였으며 p값이 0.05이하인 경우 통계적 의미가 있는 것으로 보았다.

결 과

섬유아세포의 세포생존율은 온허혈시간에 따라 점차 감소하고 있음을 알 수 있다(Fig. 2). 온허혈시간이 2시간에서 36시간으로 증가함에 따라 세포생존율은 92.15±2.67%에서 55.88±7.88%로 감소하였다(Table 1). 온허혈시간의 증가와 온허혈시간후(r=-0.857), 냉허혈시간후(r=-0.673), 냉동후(r=-0.54)의 세포생존율은 역상관관계가 높은 것을 알 수 있다(p=0.001)(Table 2). 24시간의 냉허혈시간도 세포생존율을 떨어뜨리나(p=0.05) 초저온냉동전후의 세포생존율은 크게 차이나지 않는다(p=0.656)(Fig. 3). 또한 삼첨판막의 세포생존율과 대동맥판막의 세포생존율은 서로 밀접한 상관관계가 있다(Fig. 4)(Y=0.708X+8.85, R2=0.292, p=0.001).

고 찰

임상적으로 동종 이식된 판막은 판막내 섬유아세포의 세

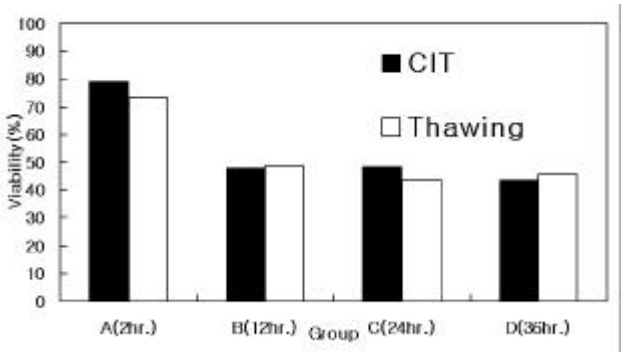

Fig. 3. Viability before and after cryopreservation processing.

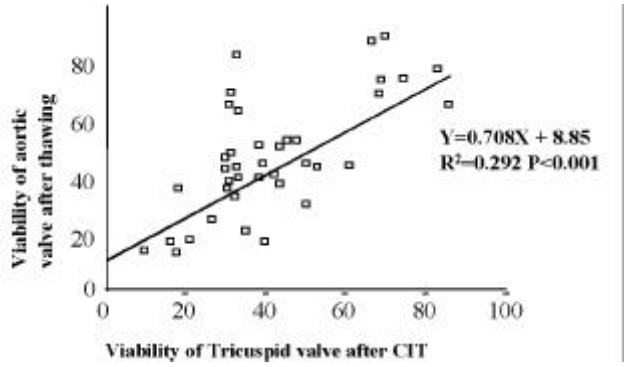

Fig. 4. Relation between the viability of aortic valve and the viability of tricuspid valve.

포생존율에 따라 내구성이 차이나는 것으로 여겨지고 있다[9-12]. 이러한 내구성은 생존한 섬유아세포의 세포외질 보존에 관계가 있는 것으로 생각하며 Hazekamp등은 in situ hybridization이라는 방법을 사용하여 생존하던 공여자 섬유아세포가 나중에 수혜자 섬유아세포로 대치되는 것을 보여 주므로써 만약 생존하지 않았다면 이곳이 석회화등으로 조직파괴가 빨리 진행되었을 것이라고 보고하고 있다[13]. 온허혈시간, 냉허혈시간, 적출과정, 박리과정, 멸균과정, 냉동과정, 해동과정 모두가 섬유아세포의 생존에 영향을 미친다[5,14,15].

온허혈시간은 이중에서도 섬유아세포의 생존성에 중요한 결정인자로 생각하고 있다. 이 연구는 심장판막의 섬유아세포의 생존성이 온허혈시간, 냉허혈시간과 냉동처리과정등에서 어떻게 변화하는지를 보기 위한 것이다. 세포생존성은 trypan blue염색을 사용하였는데 이것은 통상적으로 세포의 생존성을 보기 위한 방법이다. trypan blue염색액은 세포가 생존하는 경우 세포막이 유지되어 흡수되지 않지만 세포가 죽은 경우는 막을 통과하여 염색되게 하는 원리이다. 따라서 생존율은 염색되지 않은 세포 수를 전체세포수로 나눈 것으로 표시된다[16]. St. Louis등은 시간별 허혈의 정도를 Proton (1H)과 Phosphorous(32P) magnetic resonance spectroscopy를 사용하여 검사하였는데 허혈 2시간까지는 ATP 저장이 거의 없어지는 것으로 보아 호기성 대사가 유지되지만 lactate 가 24시간까지 계속해서 증가하는 것으로 보아 염기성 대사가 일어난다고 하였다[17]. 온허혈시간이 증가할수록 허혈기간이 증가하므로 세포생존율이 떨어지는 것은 당연한 일이나 조직공여자가 많지 않은 상황에서 더 많은 공여조직을 사용하기 위해서는 적절한 세포생존율이 유지되는 시간을 알 필요가 있다. 이 실험결과 12시간까지의 경우 모든 처리가 끝났을 때 50%의 세포생존율을 보이기 때문에 적어도 12시간 내에 심장을 적출 하여야 한다고 생각한다. 냉허혈시간은 24시간을 고정하여 측정하였는데 심장적출병원과 이를 처리하는 조직은행사이의 거리가 우리나라의 경우 특급우편으로 24시간내에는 어디든 도착가능한 거리이기 때문에 설정하였다. 물론 시간이 짧을수록 세포생존율이 좋아 질 것으로 생각한다. 만약 냉허혈시간을 더 줄일 수 있다면 온허혈시간의 허용 가능범위가 넓어질 것으로 보인다. 이상과 같은 연구결과로 심장혈관센타연구소의 공여조직의 온냉허혈시간의 허용시간은 4시간 내에 냉장된 사체의 경우 24시간 내에 심장을 적출 하면 최소한 24시간 내에 판막을 박리하여 처리할 수 있고(그러나 이번 연구에서 처럼 12시간이상 지나게 되면 처음 온도에 상관없이 50%이하의 생존율을 보이므로 늦어지지 않도록 해야 할 것이다), 냉장되고 있지 않던 사체의 경우는 12시간 내에 심장을 적출하고 12시간 내에 판막을 박리하고 처리하도록 하고 있다.

멸균과정에서도 세포생존율이 떨어진다. 항생제에 의한 세포독성인데 특히 Amphotericin B는 세포독성이 심해 Polymyxin을 사용한다[18]. 세포독성을 감소시키는 상태에서 멸균이 가능한 항생제의 복합과 용량은 계속적인 연구가 필요할 것으로 생각한다.

삼첨판막과 대동맥판막의 세포생존율이 매우 밀접한 상관관계를 갖고 있으므로 이식직전에 같이 냉동시켰던 삼첨판막을 이용하여 이식하는 대동맥판막이 어느 정도의 세포생존율을 갖고 있는지 알아볼 수 있다. 이 방법은 나중에 조직은행의 품질관리에서 매우 유용하게 사용될 것으로 보인다. 연세심장혈관센타연구소에서 확립한 동종이식판막의 냉동법은 전후의 세포생존율이 크게 차이 나지 않기 때문에 매우 우수한 방법으로 생각된다. 냉동곡선이 신뢰구간내에 존재하지 않을 경우 판막을 폐기하도록 하여 품질을 유지하도록 하고 있다. -196°C의 액체질소통에서 액체가 아닌 가스상태에서 보존하는 경우 소위 glass transition period인 -120°C보다 낮게 유지되어 약 10년간은 변화하지 않고 보존할 수 있다[19,20]. 냉동시 사용하는 냉동보호제(cryoprotectant)인 Dimethylsulfoxide(DMSO)는 상온에서 5분만 있으면 세포독성이 나타

나므로 해동시 DMSO를 순차적으로 희석해야 한다. 연구소는 처음에 1/2농도의 DMSO용액을 섞어 희석하고 다시 1/4농도의 DMSO용액에 희석한 후 마지막은 DMSO가 없는 용액에서 희석하여 사용하는 방법으로 해동한다. 냉동과정과 해동과정은 냉동과정이 약 1시간 30분, 해동과정이 약 15분 걸리지만 예상보다 세포생존율은 매우 잘 유지하는 것을 볼 수 있다. 이것은 현재 시행하는 냉동곡선과 냉동용액, 조성 그리고 해동용액과 조성이 대체로 이상적인 것에 접근하였다고 볼 수 있다. 온허혈시간이 길수록 냉동에도 나쁜 영향이 더욱 커지는 것으로 보고되고 있으나 이번 실험에서는 크게 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 1).

모든 처리 과정 후에 섬유아세포 생존율이 얼마나 좋아야 성공적인 내구성을 갖게 되는지는 아직 연구된 바가 없다.

결 론

온허혈시간에 따른 세포생존율을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 온허혈시간이 짧을수록 세포생존율을 높게 유지할 수 있으며 초저온냉동법 전체는 세포생존율에 크게 영향을 미치지 않는다.
2. 삼첨판막의 세포생존율을 측정하므로써 이식되는 대동맥판막의 세포생존율을 예측할 수 있다.
3. 온허혈시간이 12시간이내인 경우 동종이식판막은 우수한 상태로 이식이 가능할 것이다.

참 고 문 헌

1. Lockey E, Al-Janabi N, Gonzales-Lauric L, Ross DN. *A method of sterilizing and preserving fresh allograft heart valves.* Thorax 1972;27:398-400.
2. O'Brien MF, Stafford EG, Gardner M, et al. *The viable cryopreserved allograft aortic valve.* J Cardiac Surgery 2 [supple]:1987;153-67.
3. Van der Kamp AWM, Nauta J. *Fibroblast function and the maintenance of the aortic valve matrix.* Cardiovasc Res 1979;13:167.
4. Angell WW, Angell JD, Oury JH, Lambert JJ, Grehl TM. *Durability of the viable aortic allograft.* J Thorac Cardiovasc Surg 1989;98:48-56.
5. Bank HL, Brockbank KGM. *Basic principles of cryobiology.* J Cardiovasc Surg 2 suppl:1987;137-43.
6. Brockbank KGM, Carpentier JF, Dawson PE. *Effects of storage temperature on viable bioprosthetic heart valves.* Cryobiology 1992;29:537-42.
7. Freshney RI. *Measurement of viability and cytotoxicity.* In: Culture of animal. 3rd ed. New York: A John Wiely & Sons, Inc. 1994;287-99.
8. Niwaya K, Sakaguchi H, Kawachi K, Kitamura S. *Effect of warm ischemia and cryopreservation on cell viability of human allograft valves.* Ann Thorac Surg 1995;60 suppl: 114-7.
9. Fiddler GI, Gerlis LM, Walker DR, Scott O, Williams GJ. *Calcification of glutaraldehyde-preserved porcine and bovine xenograft valves in young children.* Ann Thorac Surg 1983;35:257-61.
10. Farrant J. *General observations on cell preservation.* In: Ashwood-Smith MJ Farrant J. Eds. *Low temperature preservation in medicine and biology.* Kent, England: Pitman medical limited. 1980;1-18.
11. van der Kamp AWM, Navita J. *Fibroblast function and the maintenance of the aortic valve matrix.* Cardiovasc Res 1979;13:167-72.
12. Angell WW, Angell JD, Oury JH, Lamberti JJ, Grehl TM. *Long-term follow-up of viable frozen aortic homografts.* J Thorac Cardiovasc Surg 1987;93:815-22.
13. Hazekamp MG, Koolbergen DR, Braun J, et al. *In situ hybridization: a new technique to determine the origin of fibroblasts in cryopreserved aortic homograft valve explants.* J Thorac Cardiovasc Surg 1995;110:248-57.
14. Angel WW, Oury JH, Lamberti JJ, Koziol J. *Durability of the viable aortic allograft.* J Thorac Cardiovasc Surg 1989;98:48-56.
15. Wassenaar C, Bax WA, Suylen RJ van, Vuzevski VD, Bos E. *Effect of cryopreservation on contractile properties of porcine isolated aortic valve leaflets and aortic wall.* J Thorac Cardiovasc Surg 1997;113:165-72.
16. Jones KH, Stenft JA. *An improved method to determine cell viability by simultaneous staining with fluorescein diacetated-propidium iodide.* J Histochem Cytochem 1985; 33:77-9.
17. St. Louis J, Corcoran P, Rajan S, et al. *Effects of warm ischemia following harvesting of allograft cardiac valves.* Eur J Cardio-thorac Surg 1991;5:458-65.
18. Lang SJ, Giordane MS, Cardon-Cardo C, Summers BD, Staiano-Coico L, Hajjar DP. *Biochemical and cellular characterization of cardiac valve tissue after cryopreservation or antibiotic preservation.* J Thorac Cardiovasc Surg 1994;108:63-7.
19. Hu JF, Gilmer L, Hopkins R, Wolfinbarger L Jr. *Effect of antibiotics on cellular viability in porcine heart valve tissue.* Cardiovasc Res 1989;23:960-4.
20. Hu JF, Gilmer L, Hopkins Wolfinbarger L Jr. *Assessment of cellular viability in cardiovascular tissue as studied with 3H proline and 3H insulin.* Cardiovasc Res 1990;24: 528-31.

=국문초록=

배경: 판막대치술에 냉동보존판막의 이용은 감염에 대한 저항성과 탁월한 혈류역학으로 증가하고 있다. 판막육아세포의 생존율은 이식된 냉동보존 판막의 내구성에 영향을 미친다고 알려져 있고, 세포의 생존율은 warm ischemic time에 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 냉동 보존하여 이식할 수 있는 공여판막의 Warm ischemic time의 적정치를 구하기 위하여, warm ischemic time에 따른 세포의 생존율을 관찰하였다. ***대상 및 방법:*** 1. 조직의 획득; 실제 판막을 냉동 보존하는 상황과 유사하게 하기 위하여 도살된 돼지의 심장과 폐를 밀봉한 상태로 4 8℃로 냉장 보관하여(warm ischemic time) 일정시간이 경과한 후, 심장과 폐에서 심장을 적출 하여 4℃ 하트만 용액에 24시간 보관하였다(cold ischemic time). Warm ischemic time에 따라 2시간, 12시간, 24시간, 36시간으로 4군의 나누었으며, 각 군마다 8개의 돼지심장을 이용하였다. 2. 조직의 멸균; RPMI 1640에 항생제를 섞은 용액에 멸균하고, 3. 냉동과 냉동보존; American tissue bank에서 제시한 냉동곡선에 따라 냉동하여, 액체질소 탱크에서 7일간 보존 후 해동하였다. 4. 생존율의 측정; 판막의 생존율검사는 Triphan blue test로 하였고, 각각 warm ischemic period 후, cold ischemic period 후, 해동 후에 시행하였다. 5. 분석방법; 분석은 SAS program의 pearson correlation으로 하였다. ***결과:*** 1. 멸균, 냉동과 냉동 보존하는 과정의 적합성을 규명하기 위하여, 이 과정의 전과 후인 Cold ischemic period 후와 해동 후의 대동맥판막의 생존율의 차이를 비교한 결과, 차이가 없었다(p=0.619). 2. Warm ischemic time과 warm ischemic period 후, Cold ischemic period 후와 해동 후의 대동맥판막의 생존율과의 correlation은 각각 R = -0.857, -0.673과 -0.549로 강하거나, 혹은 뚜렷한 음성적 관계가 있었다. 삼첨판막의 생존율과 대동맥판막의 생존율과 뚜렷한 상관관계가 있었다. ***결론:*** 1. Warm ischemic time이 길어지면 판막육아세포의 생존율이 감소하고, 12시간 이상 되면 해동후의 판막육아세포의 생존율이 50% 이하로 떨어졌다. 2.본 연구소에서 시행한 판막의 냉동보존방법은 세포의 생존율을 유지하는 데 양호한 것으로 나타났으며 삼첨판막으로 대동맥판막의 생존율을 예측해 볼 수 있다. 3. 그러나, 이식후 장기간 적절한 내구성을 갖기 위한 이식될 판막의 생존율은, 육아세포에 관한 연구가 좀 더 되어야 규명될 것이다.

중심 단어: 1. 동종이식용 판막
2. 생존율
3. 초저온냉동