

냉한에서 보관된 황견의 폐에서 장기 보존액에 따른 조직 세포의 변화

김해균* · 이두연* · 백효채* · 배기만* · 조현민* · 이기범** · 박만실*** · 김현****

=Abstract=

Histopathological Changes in Cold-Stored Dog Lungs to the Preservation Solutions

Hae Kyoon Kim, M.D.*, Doo Yun Lee, M.D.*, Hyo Chae Paik, M.D.*, Bae Ki Man, M.D.*, Hun Min Cho, M. D.*, Kyi Beom Lee, M.D.**, Man Sil Park, M.D.***, Hun Kim, M.D.****

Lung transplantation is the established treatment for the end stage lung disease and preservation of the organ is a major obstacle in performing lung transplantation. For solving this problem, we evaluated the histopathologic changes for various preservation solutions.

Male mongrel dogs of similar size and weight(15~20 kg) were used. The dog lungs were flushed with 4°C normal saline(group 1: n=5); Modified Euro-Collins solution(group 2: n=5) and University of Wisconsin solution(group 3: n=6), 60ml/kg through a catheter placed in the main pulmonary artery after flushing of PGE1 (20ng/kg). The lungs were preserved for 60 hours and measured dry and wet weights. Histologic specimens were taken every 6 hours and fixed for light microscopic evaluation.

The edema ratio of the lungs peaked in 12 hours although there was no difference between the groups. Histologically, alveolar septal changes developed in one case(20%) after 1 hour preservation with normal saline. In case of the University of Wisconsin solution, the alveolar septal distortions and swellings were seen in 1 cases(20%) after 6 hours preservation compared with 3 cases(60%) after 6 hours preservation with Modified Euro-Collins solution. Changes of the pneumocytes were observed after 24 hours preservation in group 1, after 48 hours preservation in group 2 and after 60 hours preservation in group 3.

We conclude that University of Wisconsin solution might have a superior preservation effect compare to normal saline and Modified Euro-Collins solutions.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1996;29:816-21)

Key words : 1. Lung transplantation
2. Organ preservation.

* 연세대학교 의과대학 흉부외과학교실

* Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Yongdong Severance Hospital, Yonsei University, Seoul, Korea.

** 아주대학교 의과대학 병리학교실

** Department of Pathology, Ajou University, Suwon, Korea

*** 노원 을지병원 흉부외과

*** Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Nowon Eulji Hospital, Seoul, Korea

**** 고려대학교 해부학교실

**** Department of Anatomy, Korea University Seoul, Korea

본 연구는 1993년도 연세대학교 의과대학 학술연구비 보조에 의함.

논문접수일: 96년 2월 5일 심사통과일: 96년 4월 24일

책임저자: 김해균, (135-270) 서울시 강남구 도곡동 영동세브란스병원 흉부외과, Tel, (02) 3450-3382, Fax, (02) 566-8286

서 론

장기이식 수술의 개발과 성공은 신장, 간장, 췌장, 심장, 폐의 이식을 가능하게 하였으나 공여장기의 후송, 장기간 보관의 어려움과 이식중에 발생하는 허혈성 손상에 대한 방지에 많은 문제가 있었다¹⁾.

장기의 보존에는 Collins-용액과 Euro-Collins-용액이 표준용액으로 사용되어 왔으며 최근 1986년 University of Wisconsin(UW)-용액이 개발되어 폐의 보존을 12시간까지 안전하게 보존할 수 있다고 하였으며^{2,3)} 1990년 Kyoto대학의 Wada 등⁴⁾이 폐 보존을 위한 새로운 보존액을 개발하여 폐의 보존시간을 24시간까지 연장시켰다고 보고하였다. 이에 저자들은 생리식염수, Euro-Collins-용액, UW-용액을 이용하여 각각의 용액과 보존시간에 따라 폐의 조직, 병리소견의 변화를 관찰하여 서로 비교하며 각 보존액에서의 폐를 허혈손상없이 얼마동안 안전하게 보존가능한지를 측정하여 임상치료에 응용하고자 하였다.

대상 및 방법

대상은 몸무게 15~20kg 내외의 황견을 3군으로 나누었는데 1 군은 보존액을 생리식염수로 사용한 5마리, 2군은 Euro-Collins-용액을 이용한 황견 5 마리와 3 군은 University of Wisconsin-용액을 이용한 황견 6마리로 실험을 시행하였다.

방법은 수술 4 시간 전 부터 금식 시킨 몸무게 15-20kg 내외의 황견을 준비하여 수술당일 엔토바(20~30mg/kg)를 정맥주사하여 진정시킨후 좌우측 흉벽의 털을 제거시켰다.

기관삽관 전신마취하여 정중절개한 후 주폐동맥을 노출시켜 2.0mg/kg의 헤파린과 PGE1(20ng/kg)을 투여후 상대정맥과 하대정맥을 결찰 절단하고 예정된 4℃의 냉각된 보존액(생리식염수 n=5; Euro-Collins 용액 n=5; UW 용액 n=6)을 60cc/kg양으로 2cmH₂O 압력으로 주입하며 좌심방이를 열어 보존액을 좌측 흉강내에 저류시키며 폐의 온도를 하강시킨다. 보존액 주입이 끝난다음 대동맥궁 분지를 결찰절단하고 흉부대동맥을 결찰절단후 양측 폐에 20cmH₂O 압력으로 공기를 주입후 상부기관을 결찰 후 폐와 심장을 완전 절제한다. 절제된 심장과 폐는 4℃ 냉각된 보존액이 담겨있는 통속에 보존후 1시간, 6시간, 12시간, 24시간, 36시간, 48시간, 60시간 순으로 폐조직을 채취하였다. 채취된 조직의 wet weight를 측정한다 다음 24

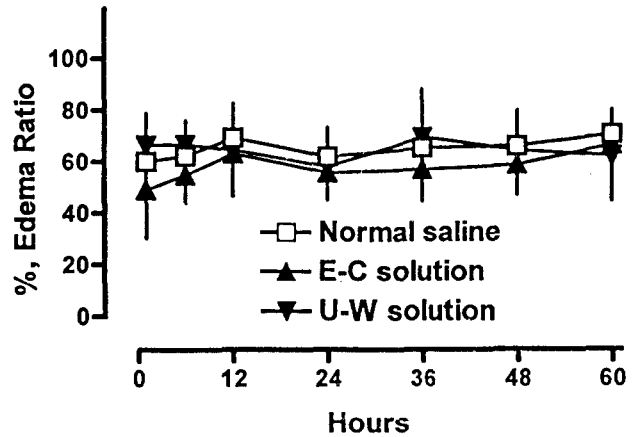


Fig. 1. Edema ratio curves for all groups. There was no difference in time among groups(p>0.05). E-C : Euro-Collins, U-W: University of Wisconsin.

시간 건조기내에서 건조시킨 후 dry weight를 측정하여 수분율 = (wet weight- dry weight)*100/wet weight로 계산하고, 육안소견, 현미경 병리조직소견을 관찰하여 보존액 및 시간에 따라 차이점을 비교하였다. 사용된 보존액은 Normal saline 0.9% (중외제약, Seoul, Korea), Modified Euro-Collins solution (Na⁺ 10 mmol, K⁺ 115 mmol, H₂PO₄- 15 mmol, HPO₄ 42.5 mmol, Cl⁻ 15 mmol, HCO⁻ 10 mmol, Glucose 194 mmol) 과 University of Wisconsin solution (NPBI, Emmer-Compascuum, Netherland)를 사용하였다.

모든 결과는 평균과 평균 편차를 구하여 비교하였고, T-test 를 실시하였고 p 값이 0.05 이하인 경우 통계학적인 의의 있는 것으로 보았다.

결 과

폐의 수분율은 보존 후 6시간부터 증가하여 12시간 후 최대치가 되고 그 후 감소하는 경향을 보이나, 각군 별로는 통계적인 차이는 없었다(Fig. 1).

형태학적인 변화로는 septal distortion 또는 swelling 및 pneumocyte의 변화 또는 탈락(sloughing)이 관찰되었다(Fig. 2). 시간에 따른 변화를 보면 제 1군(normal saline)에서 5예 중 1예에서 냉한 보존 1시간 후 가장 먼저 alveolar septum의 변화를 보였고(Fig. 3), 2군(Euro-Collins solution)는 냉한 보존 6시간 후부터 5예 중 3예에서 alveolar septum의 distortion과 swelling이 있었으며, 3군(University of Wisconsin solution)에서는 6시간 후에는 5예 중 1예에

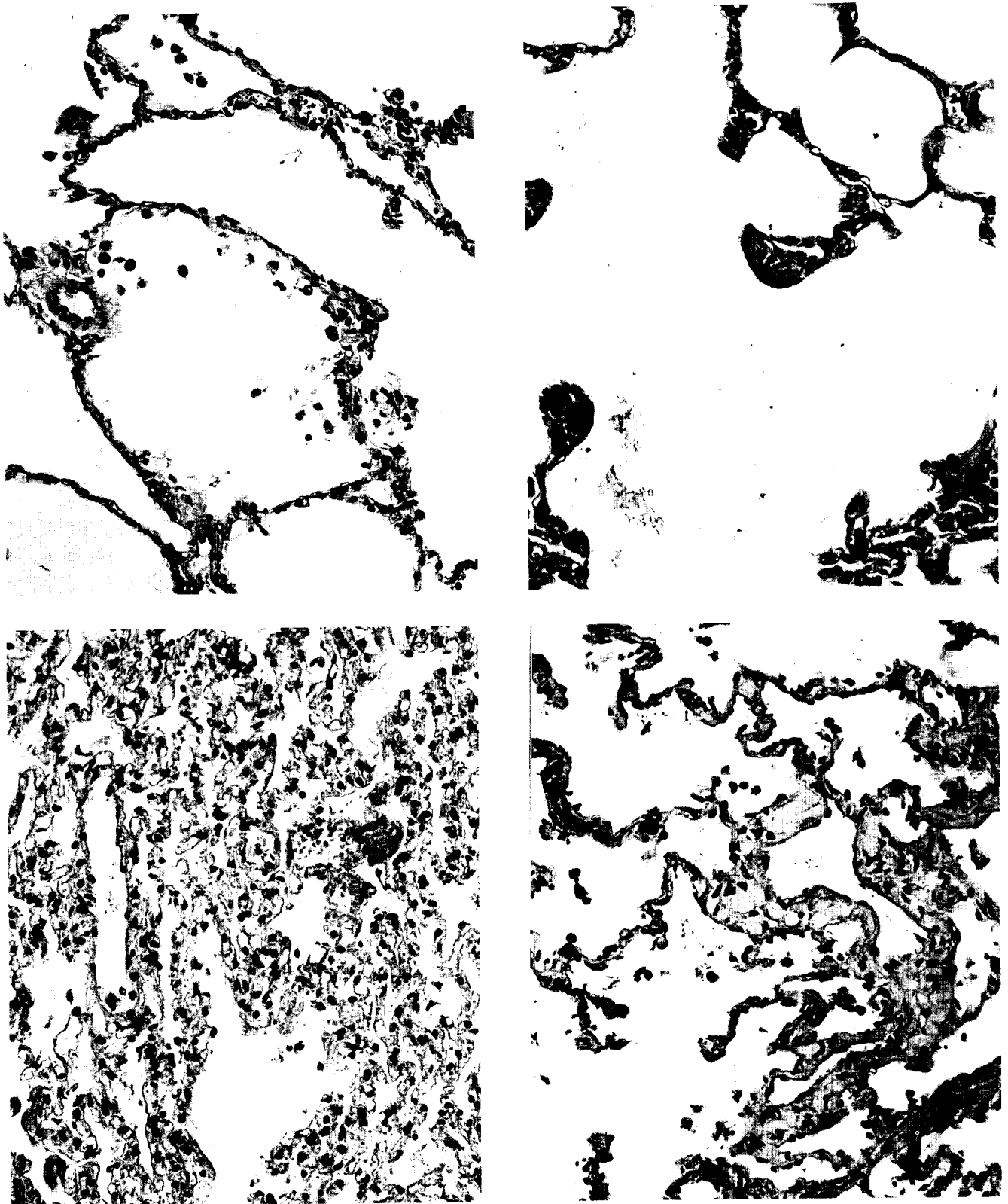


Fig. 2. Histologic changes in preserved dog lung(H-E stain, $\times 400$). Left upper panel shows the changes of pneumocytes and right upper panel shows the epithelial changes. Left lower panel shows sloughing of pneumocytes and right lower shows the septal distortion or swelling.

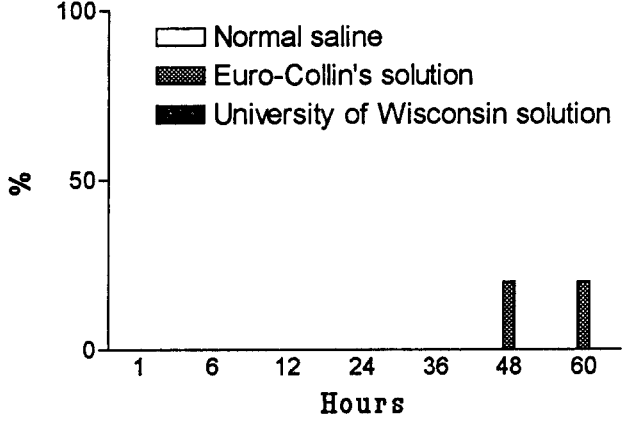
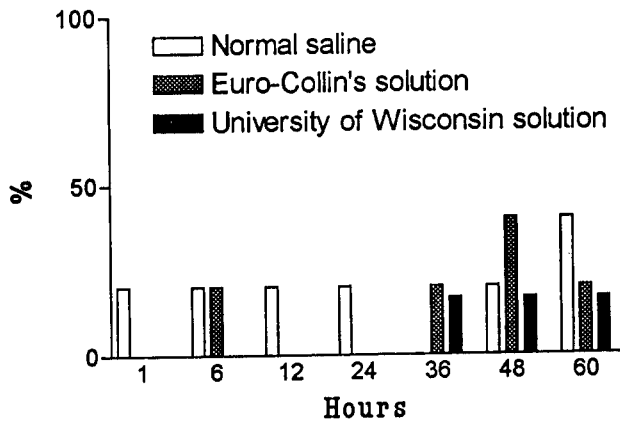
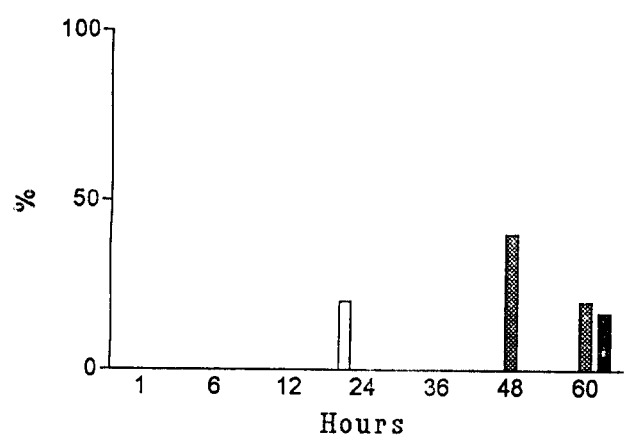
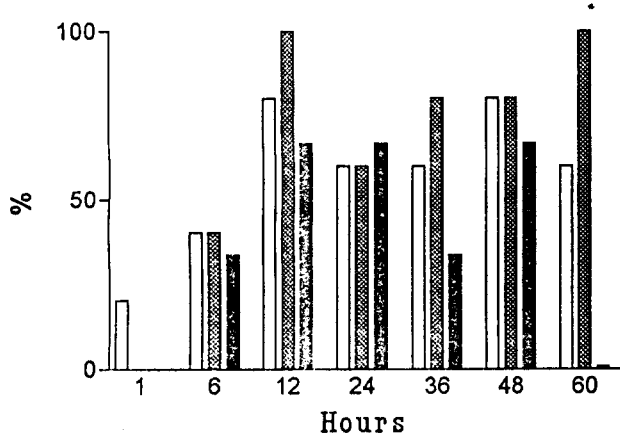


Fig. 3. Upper panel shows septal distortion and swelling. In normal saline group, septal change showed on early stage but in the Euro-collins and University of Wisconsin solution those changes were seen after 6 hours. Lower panel reveals endothelial changes of the blood air barrier in septum found after 36 hours preservation in the Euro-collins and University of Wisconsin solution.

Fig. 4. Upper panel shows morphometric changes of the pneumocyte. In normal saline group, septal change showed on early stage but in the Euro-collins solution those changes can be seen after 48 hours and in the University of Wisconsin solution those changes can be seen after 60 hours. Lower panel reveals the sloughing of the pneumocytes were found after 48 hours preservation in the Euro-collins but not in the University of Wisconsin solution.

서, 12시간 후에는 5예 중 4예에서 alveolar septum의 swelling을 보였다(Fig. 3, 4).

Pneumocyte의 형태학적 변화는 1군에서는 24시간 후부터, 2군에서는 48시간 후부터, 3군에서는 냉한 보존 60시간 후에 나타났으며 pneumocyte의 탈락(sloughing)은 3군에서는 나타나지 않았으나 2군에서는 48시간 후부터 나타나는 것으로 보아 3군에서 더 형태학적으로 보존이 잘 되는 것을 알 수 있다(Fig. 3, 4).

고 찰

1950년 Metras 등⁵⁾에 의해 개에서 폐이식 실험이 시행되었으며 1954년 Hardin, Kittle 등⁶⁾에 의해 폐이식수술이 시도되었으며 1963년 Hardy, 1968년 Derom 등⁷⁻⁹⁾에 의해 사람에서 폐이식수술이 성공하게 되었다. 1988년 Kamholz, Cooper 등^{10, 11)}이 보다 양호한 경과를 보고하여 폐이식수술의 임상응용 가능성을 제시하였으며 폐이식수술의 성패는 공여폐의 허혈성 손상이 중요함을 언급하였다.

일찌기 1968년 Hino 등¹²⁾은 절제된 공여폐에서 냉각된 10% low molecular weight dextran을 투여하여, 저온화시키고, hyperbaric O₂을 흡입시켜 48시간까지 80%의 세포가 생존하고 있었으며 72시간이후엔 생존율이 급격히 하강함을 보고하였다. 1987년 Baldwin 등¹³⁾은 냉각된 Euro-Collins용액을 이용하여 폐동맥을 통해 폐를 세척하고 보관하여 폐보관시간을 연장시켰으며 그후 10년간 장기보존용액으로 널리 이용되었으며 폐의 보존시간은 8시간까지 안전하게 보존이 가능하다고 보고 하였다. 1986년 Wisconsin대학의 Wahlerg 등¹⁴⁾이 체장보존을 위한 새로운 보존액을 개발하였으며 이 UW보존액이 폐보존에도 우수한 효과가 있음이 입증되어 이용빈도가 증가하고 있으며 폐의 보존시간을 12시간까지 안전하게 연장할 수 있다고 하였다. 그후 Kyoto대학의 Wada 등¹⁵⁾은 Kyoto용액을 개발하여 동물실험결과 24시간까지 안전하게 폐를 보존할 수 있음을 보고하였다.

보존액에 보존한 후의 조직병리소견의 차이에 대한 연구는 상대적으로 부족하나 Fehrenbach 등¹⁵⁾이 연구한 바에 따르면 임상적인 경과는 type 1 pneumocyte의 표면율(surface fraction), 혈관내피세포의 체밀도(volume density of capillary endothelial cells)와 type 2 pneumocyte의 체밀도(volume density)가 밀접한 관계가 있다고 하였다. 저자들은 이들 보존액에 보존한 폐의 안전 보존시간과, 시간에 따른 폐 조직소견의 변화를 관찰한 바 University of Wisconsin solution군에서는 6시간 후 부터 alveolar septum의 distortion과 swelling 변화가 나타나기 시작하며, 36시간 후 부터는 alveolar septum의 air blood barrier의 endothelial change가 나타나 normal saline 으로 보존한 군에 비하여 좋은 보존효과를 보였다. 또 pneumocyte의 변화 유무로 볼 때 Euro-Collins solution군에서는 48시간, University of Wisconsin solution군에서는 60 시간까지 보존이 가능하였는데 이는 모든 보존액이 저온유발성 세포팽창(hypothermia-induced cell swelling)을 방지하기 위하여 Euro-Collins solution은 glucose를, University of Wisconsin solution은 lactobionate와 raffinose를 주로 사용하고있기 때문으로 생각된다¹⁶⁾.

현재까지 국내에서의 장기이식은 어느 특정기관에서 장기공여자와 수용자가 동시 입원하여 수술준비후 전신마취하에서 공여자와 수용자의 장기가 동시에 적출되고 수용자에게 절제된 공여자의 장기가 이식되는 절차를 선호하여 절제장기의 장기보존에 대한 연구는 거의 없는 상태이다. 그러나 공여자의 장기를 보다 효율적으로 여러 수용자에게 안전하게 사용되도록 하기 위해서는 보다 우수한 장

기보존액으로 매우 안전한 방법으로 보존되어 장기가 필요한 수용자가 입원하고 있는 기관까지 후송되어야 할 것이다. 폐의 안전한 보존시간이 연장되는 경우 폐이식을 위해 뇌사가 인정된 공여자가 수용자가 입원하고 있는 병원까지 후송될 필요가 없으며 공여자가 입원하고 있는 병원에서 적절한 시기에 여러장기가 신속히 적출되어 각각 필요한 병원, 기관으로 후송됨으로써 보다 신속하게 많은 수용자에게 장기이식의 기회를 부여하리라 본다.

결 론

1. 본 연구의 목적은 기존의 Euro-Collins용액과 University of Wisconsin용액의 효과를 시간에 따른 형태학적 변화와 폐의 수분도의 변화를 관찰함으로써 냉한에 보존된 폐의 변화의 차이를 알아보았다.
2. 방법은 황견을 세 군으로 나누어 보존액을 Group 1(n=5)은 normal saline으로, Group 2(n=5)는 Euro-Collins solution으로, Group 3(n=6)는 University of Wisconsin solution등으로 나누어 60시간까지 냉한에 보존하면서 시간에 따른 형태학적 변화와 폐의 수분율의 변화를 관찰하였다니 수분율은 각군에 따른 변화가 없었다. 세포의 형태학적 변화는 3군(University of Wisconsin solution)에서 잘 나타나지 않는 것으로 나타났다.
3. 향후 기능적 변화와 비교관찰이 필요하리라 사료된다.

참 고 문 헌

1. 이두연, 이영석, 김해균, 이교준, 이기범. 황견에서 폐이식수술 후 이식된 폐의 병리소견. 대흉외지 1992;25(4):356-63
2. 김태수, 서경석, 정중기, 김상준, 김수태. 장기 보존액으로 냉한 보관된 흰쥐의 간에서 시간에 따른 형태학적 변화. 대한이식학회지 1992;6:115
3. Lin PJ, Hsieh MJ, Cheng KS, Kuo TT, Chang CH. University of Wisconsin solution extends lung preservation after prostaglandin E1 infusion. Chest 1994;105(1):255-61
4. Bando T, Kosaka S, Liu C, Hirai T, Hirata T, Yokomise H, Yagi K, Inui K, Hitomi S, Wada H. I. Effects of newly developed solutions containing trehalose on twenty-hour canine lung preservation. Thorac Cardiovas Surg 1994;108(1):92-8
5. Metras H. Note préliminaire sur la greffe totale du poumon chez. Cr Acad Sci 1950;231:176
6. Hardin CA, Kittle CF. Experiences with transplantation of the lung. Science 1954;119:97
7. Hardy JD, Eraslan S, Dalton ML, Alican F, Alican F, Turner MD. Implantation and homotransplantation of the lung. Laboratory studies and clinical. Ann Surg 1963;157:707
8. Hardy JD, Webb WR, Dalton ML, Walker GR. Lung

homotransplantation in man. JAMA. 1963;186:1065.

9. Derom F, Bargier F, Ringoir S, et al. Ten-month survival after lung homotransplantation in man. J Thorac Cardiovasc Surg 1971;61(6):835-46

10. Kamholz SL. Current perspectives on clinical and experimental single lung transplantation. Chest 1988;94(2):390-6

11. Toronto lung transplant Group. Experience with single lung transplantation for pulmonary fibrosis. JAMA 1988;259:2258

12. Hino K, Grogan JB, Hardy JD. Viability of stored lungs. 1968;6(1):25-32

13. Harjula A, Baldwin JC, Shumway NE. Dornor deep hypothermia or Donor pretreatment with prostaglandin E1 and single pulmonary artery flush for heart-lung graft preservation: An experimental primate study. Ann Thorac Surg 1988;46(5):553-5

14. Hirt SW, Wahlers T, Jurmann MJ, ET AL. University of Wisconsin Versus modified Euro-Collins solution for lung preservation. Ann Thorac Surg 1992;53(1):74-9

15. Fehrenbach H, Hirt SW, Wahlers T, et al. Euro-Collins flush perfusion in human lung preservation. J Heart Lung Transplantation 1994;13:1-14

16. Belzer FO, Southard JH. Principles of solid organ preservation by cold storage. Transplantation 1988;45(4):673-6

=국문초록=

장기이식 수술의 개발과 성공은 신장, 간장, 췌장, 심장 및 폐의 이식을 가능하게 하였으나 공여 장기의 후송, 장시간 보관의 어려움과 이식 중에 발하는 허혈성 손상에 대한 예방에 많은 문제가 있었다. 현재까지 폐의 장기 보존에 있어서 그 보존용액에 대해서는 많은 연구가 있었으나 형태학적 연구가 부족한 것 같다.

따라서 본 연구의 목적은 기존의 Euro-Collin용액과 University of Wisconsin용액의 효과를 시간에 따른 형태학적 변화와 폐의 수분도의 변화를 관찰함으로써 냉한에 보존된 폐의 변화의 차이를 알아보는 데 있다.

방법은 황견을 세 군으로 나누어 보존액을 Group 1(n=5)은 normal saline으로, Group 2(n=5)는 Euro-Collins solution으로, Group 3(n=6)는 University of Wisconsin solution등으로 나누어 60시간까지 냉한에 보존하면서 시간에 따른 형태학적 변화와 폐의 수분율의 변화를 관찰하였다.

결과를 보면 폐의 수분율은 보존 후 6시간부터 증가하여 12시간 후 최대치가 되나, 각군 별로는 통계적인 차이는 없었다. 형태학적인 변화로는 제 1군에서 5예 중 1예에서 냉한 보존 1시간 후 가장 먼저 alveolar septum의 변화를 보였고, 2군은 냉한 보존 6시간 후부터 5예 중 3예에서 alveolar septum의 distortion과 swelling이 있었으며 또 pneumocyte의 변화를 보였고, 3군에서는 6시간 후에는 5예 중 1예에서, 12시간 후에는 5예 중 4예에서 alveolar septum의 swelling을 보였다. 또 pneumocyte에 대한 변화는 1군에서는 24시간 후부터, 2군에서는 48시간 후부터, 3군에서는 냉한 보존 60시간 후에 나타났다.

이와 같이 세포의 형태학적 보존은 3군에서 잘 되는 것으로 나타났다.

- 중심단어:** 1. 폐 이식
2. 형태학적 보존
3. University of Wisconsin solution