

개의 부분간 동종이식에서 Lipo-PGE₁의 역할

¹이화여자대학교 의과대학 외과학교실, ²연세대학교 의과대학 외과학교실, ³연세대학교 원주의과대학 외과학교실

정구용¹ · 김유선² · 채윤석² · 이우정² · 김명수³ · 최금자¹

The Effect of Lipo-PGE₁ in Canine Partial Liver Allograft Model

Ku-Yong Chung, M.D.¹, Yu Seun Kim, M.D.², Yoon-Seok Chae, M.D.², Woo-Jung Lee, M.D.², Myoung Soo Kim, M.D.³ and Kum-Ja Choi, M.D.¹

¹Department of Surgery, Ewha Womans University College of Medicine, and ²Department of Surgery, Yonsei University College of Medicine, and ³Department of Surgery, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju, Korea

Purpose: Hepatoprotective effect of prostaglandin E₁ (PGE₁) has been verified in numerous animal experiments but not so apparent in clinical trials. Although the reason for this discrepancy in clinical results is still unknown, one possible explanation is the instability of PGE₁. In this study, the hepatoprotective effect of lipo-PGE₁, which is known to be stable during pulmonary circulation and have more targeting effect, was investigated in canine partial liver allotransplantation. In order to reckon in the possible injury during harvest of partial liver, lipo-PGE₁ was infused from the start of living graft harvest procedure. **Methods:** Mongrel dogs weighing about 25 kg were divided into control (n=6) and lipo-PGE₁ (n=6) group. Partial liver allotransplantation was performed. In lipo-PGE₁ group, lipo-PGE₁ was slowly infused through splenic venous cannulation during the donor liver harvesting procedure (50 mg) and continuously infused (60 mg/day) for 48 hrs after reperfusion. The aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), and lactate dehydrogenase (LDH) were monitored. **Results:** The AST and ALP levels of the lipo-PGE₁ group were significantly

lower than that of the control group at both 1 hour and 48 hours after reperfusion. The LDH level in lipo-PGE₁ group was lower at 1 hour and 48 hours after reperfusion, but no significant differences were shown between two groups. **Conclusion:** This study demonstrated the hepatoprotective effect of the lipo-PGE₁ against ischemia-reperfusion injury in canine partial liver allotransplantation. (J Korean Soc Transplant 2001;15:130-133)

Key Words: Ischemic-reperfusion injury, Liver transplantation, Lipo-PGE₁

중심 단어: 허혈-재관류 손상, 간이식, Lipo-PGE₁

서 론

간이식 수술에 있어 중요한 해결 과제로 대두되어 있는 무기능 이식(non-functioning graft) 또는 조기 이식 기능 부전(early graft dysfunction)은 이식 간의 5~20%에서 발생하며,⁽¹⁾ 재이식하지 않는 경우 대부분 사망에 이르게 된다. 허혈-재관류 손상에 의한 미세순환 장애가 조기 무기능 이식의 가장 중요한 원인의 하나로 주목받으면서 장기 보존액과 관류액의 개발 및 발전을 위한 연구들이 진행되어 왔고 많은 시험적 약물 중 prostaglandin E₁ (PGE₁)의 효과도 다양하게 연구되어 왔다.(2-7) PGE₁의 임상사용 보고에서 Grieg 등⁽⁸⁾은 조기 무기능 이식에 PGE₁을 사용하여 조직 생존율을 높였다고 보고한 반면 Henley 등,⁽⁹⁾ Klein 등⁽¹⁰⁾은 double-blind randomized trial을 시행하여 PGE₁이 간이식 환자의 중환자실 체류기간은 줄였으나 조기 무기능 이식을 줄이는데는 효과가 없음을 보고하였다. 이러한 상반된 결과의 원인은 정확하게 밝혀지지 않았으나 PGE₁의 불안정성이 그 원인 중의 하나로 지적되고 있다. PGE₁은 반감기가 약 30초로 매우 짧으며, 정주될 경우 한번의 폐순환을 통해 70%가 대사된다.⁽¹¹⁾ 이러한 특성 때문에 PGE₁은 투여되는 경로에 따라 혈압, 간 혈류 개선 및 혈류 저항에 미치는 효과가 상이하다는 연구 결과가 보고되고 있다.^(12,13) 본 연구에서는 염증 조직에 선택적으로 작용하면서 폐순환을 통한 대사에 안정적인 lipo-PGE₁⁽¹⁴⁾을 사용하여 개의 부분간 이식 후 허혈-재관류 손상에 대한

책임저자 : 정구용, 서울시 종로구 종로 6가 70번지
이화여자대학교 동대문병원 외과, 110-126
Tel: 02-760-5124, Fax: 02-743-7297
E-mail: kuyong@mm.ewha.ac.kr

본 논문의 요지는 2001년 7월 국제간이식학회(ILTS, 베를린)와 2001년 6월 제26회 일본외과계연합학회 학술대회(JCS, 동경)에서 각각 발표되었음.

본 논문은 Welfide Korea Co., Ltd의 연구비 지원과 2000년 이화여자대학교 동대문병원 임상연구비 지원에 의해 이루어졌음.

채윤석: 관동대학교 의과대학 외과학교실(현주소)

보호 효과를 관찰하고자 하였다. 또한 기존의 연구에서는 PGE₁을 재관류 후부터 투여하였는데 공여간(donor liver)의 조직 손상은 뇌사상태와 간 구득(harvest) 과정에서 이미 진행되고 있을 가능성이 있으며 손상 받은 장기는 재관류 후의 어떠한 시도에 의해서도 회복되지 않을 수 있기 때문에 기존의 연구와는 달리 생체 부분간 구득 과정에서부터 lipo-PGE₁을 투여하면서 결과를 간효소치 변화로 관찰하였다.

방 법

1) 실험동물 및 수술과정

25 kg 내외의 잠중견을 lipo-PGE₁ 투여군(n=6)과 대조군(n=6)으로 나누어 수술을 시행하였다. 각각의 부분간 이식 수술시 마다 체중이 비슷한 공여견과 수여견 한 쌍의 개를 준비하여 12시간 동안 금식시킨 후 수술을 시행하였다.

Pentothal sodium으로 마취 유도 후 기관 삽관하여 ventilator에 연결하였다. Isofluran으로 마취 유지하면서 pancuronium bromide를 적당한 간격으로 투여하여 근이완을 시켰다. 우측 외경정맥(external jugular vein)에 삽관하여 수액을 공급하였고 우측 대퇴동맥(femoral artery)에 삽관하여 계속적 혈압감시장치에 연결하였다.

Bisubcostal incision으로 개복 후 총수담관(common bile duct)을 분리하여 삽관 하였다. 비장정맥의 가지 중 하나를 노출하여 polyethylene tube를 삽관한 후 lipo-PGE₁ 투여군은 생리 식염수 80 cc에 lipo-PGE₁ 50 mg을 혼합하여 공여 부분간 절제 직전까지 서서히 정주하였다. 위십이지장 동맥을 분리 절제한 후 총간동맥(common hepatic artery)을 길게 노출하여 혈관감자를 거치할 수 있도록 준비하였다. 간 문부(porta hepatis)의 문맥(portal vein) 가지를 정리하여 약 2 cm 정도의 좌측 문맥을 노출시켰다. 간 겸상인대(falciform ligament)와 좌측 관상인대(coronary ligament)를 절제하여 중간정맥(middle hepatic vein)과 좌간정맥(left hepatic vein)을 노출시킨 다음 중간정맥을 통하여 정맥혈을 채혈하였다. 중간정맥은 채혈 후 이중 절찰하여 잘랐다. 간의 우 내측엽(right medial lobe)과 우 외측엽(right lateral lobe) 사이에 미상엽(caudate lobe)이 안장처럼 하대정맥(inferior vena cava)위에 위치하는데 이 부분의 간 실질을 절제, 분리해 놓음으로써 간의 우 내측엽, 방형엽(quadrant lobe), 좌 내측엽(left medial lobe) 및 좌 외측엽(left lateral lobe), 미상엽의 유두돌기(papillary process of caudate lobe)를 포함하는 약 70%의 간이 혈관으로만 연결된 채로 구득 준비가 완료되었다. 좌측 문맥에 삽관하여 4°C 하트만수액으로 관류를 시작하면서 총 간동맥, 좌간정맥에 혈관감자를 거치한 후 절제하였다. 절제된 부분간을 체외로 배출하여 lipo-PGE₁ 50 mg을 섞은 UW solution 1 L로 추가 관류한 후 4°C로 냉장 보관하였다. 수여견 역

시 같은 술식으로 좌측엽을 절제한 후 좌간정맥, 좌측 간문맥, 총간동맥 순으로 단단 문합하였다.

Lipo-PGE₁ 투여군은 수술 후 48시간 동안 lipo-PGE₁ (60 mg/day)이 지속적으로 투여되었다.

대조군에서도 같은 방법으로 수술이 이루어졌으며 lipo-PGE₁ 대신 동량의 하트만수액이 투여되었다.

간효소치의 측정을 위해 간 구득 직전 중간정맥에서, 재관류 1시간 후, 48시간 후에 대퇴동맥에서 혈액을 채취하였다.

2) 간 효소치의 측정

Aspartate aminotransferase (AST), Alkaline phosphatase (ALP), Lactate dehydrogenase (LDH)를 자동분석기로 측정하였다.

3) 통계분석

결과는 모두 평균±표준오차(standard error)로 표시하였다.

통계적 유의성은 unpaired Student's t-test를 이용하여 분

Table 1. 대조군과 Lipo-PGE₁ 투여군의 특성 비교

	대조군 (n=5)	Lipo-PGE ₁ 군 (n=6)	P value
공여견의 체중(kg)	24.2±0.73	23.8±1.16	NS*
수여견의 체중(kg)	23.6±0.51	21.8±0.73	NS
이식된 간의 무게(gm)	432±32.2	491±50.9	NS
총 허혈 시간(min)	370±23.9	339±11.0	NS

*NS = not significant.

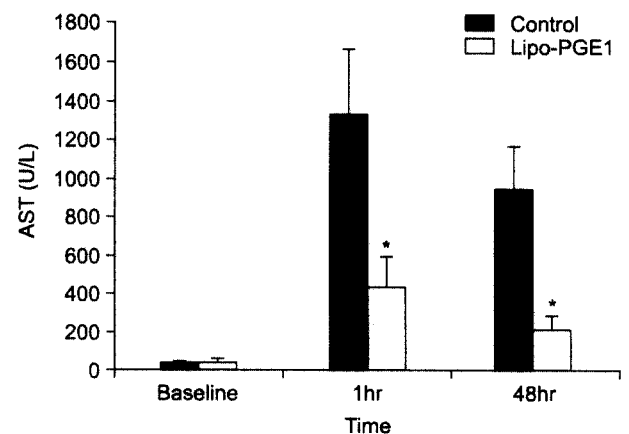


Fig. 1. 대조군과 lipo-PGE₁ 투여군의 시간에 따른 혈중 AST의 변화(Baseline: 수여견의 부분간 절제 전, 1 hr: 재관류 1시간 후, 48 hr: 재관류 48시간 후, * = p<0.05).

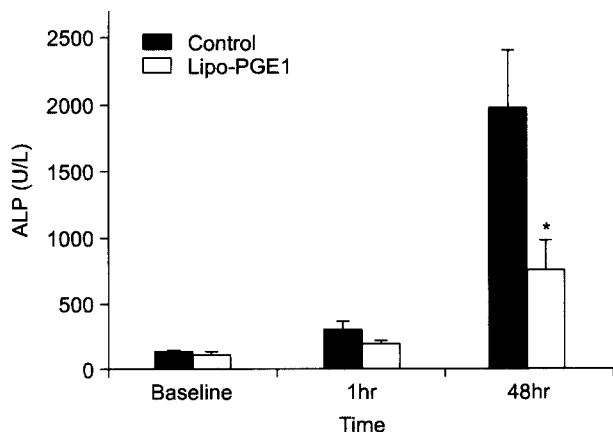


Fig. 2. 대조군과 lipo-PGE₁ 투여군의 시간에 따른 혈중 ALP의 변화(Baseline: 수여견의 부분간 절제 전, 1 hr: 재관류 1시간 후, 48 hr: 재관류 48시간 후, * = $p < 0.05$).

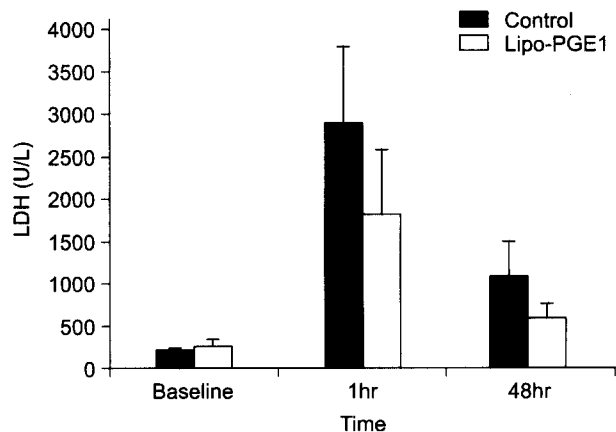


Fig. 3. 대조군과 lipo-PGE₁ 투여군의 시간에 따른 혈중 LDH의 변화(Baseline: 수여견의 부분간 절제 전, 1 hr: 재관류 1시간 후, 48 hr: 재관류 48시간 후).

석하였고, p value가 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 보았다.

결 과

Lipo-PGE₁군 6쌍과 대조군 6쌍의 동종 부분간 이식 수술을 시행하였고, 이중 대조군 한 예가 술 후 24시간 내에 사망하여 통계 분석에서 제외되었다. 공여견, 수여견의 체중 및 이식된 간의 무게, 총 허혈시간에 있어 두 군간의 유의한 차이는 없었다(Table 1).

AST는 재관류 1시간 후, 48시간 후 측정치 모두 lipo-PGE₁ 투여군에서 통계적으로 유의하게 상승이 억제되는 소견을 보였다(Fig. 1). ALP는 재관류 후 48시간까지 두 군 모두에서 상승되는 양상이었으며 최고치를 이룬 재관류 48시간 후의 측정치가 lipo-PGE₁ 투여군에서 통계적으로 유의하게 상승이 억제되었다(Fig. 2). LDH는 lipo-PGE₁ 투여군에서 재관류 1시간 후, 48시간 후 모두 낮았으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Fig. 3).

고 찰

PGE₁은 혈관 평활근에 직접 작용하여 강력한 혈관 확장 작용을 나타낼 뿐만 아니라(15,16) 혈관 내피 세포의 통합성을 유지하고 유리 산소에 의한 손상을 감소시키며, 항혈소판 작용과 혈전 용해 작용에도 관여하여(17,18) 미세순환 장애를 개선하는 것으로 알려져 있다. 또한 PGE₁은 쥐에서 interleukin (IL)-1, IL-2, tumor necrosis factor (TNF)의 생산을 억제하여 대식세포의 Ia 항원 발현을 억제하고(19,20) 사람에서도 IL-2의 생산 및 IL-2 수용체의 발현 억제, 호중구 HLA-DR 항원 발현 억제, T-cell 증식을 억제하

는 등(21,22) 면역 억제 작용에도 관여함이 보고되고 있다. 그러나 이러한 고무적인 PGE₁의 실험성적에도 불구하고 임상적용의 예에서는 그 효과가 명확하지 않고 오히려 Henley 등,(9) Klein 등(10)의 연구에서는 조기 무기능 이식의 예방에 도움이 되지 않았던 것으로 보고되었다. 이에 대해 본 연구자들은 첫째, 새로운 delivery vehicle로 염증조직 집적성이 높아 targeting효과가 높은 lipo-PGE₁을 사용하였으며, 둘째, 공여간을 구득하는 과정에서부터 비장정맥을 통해 lipo-PGE₁을 투여하여 그 결과를 관찰하였다. 그 결과 간 효소치로 본 간손상의 정도가 lipo-PGE₁ 투여군에서 대조군에 비해 경감되는 것을 확인하였다. 이러한 연구 결과를 토대로 PGE₁을 투여한 lipo-PGE₁ 투여군의 대조군과 공여간 구득 이후 lipo-PGE₁을 투여한 군을 설정한 추가 연구를 계획하고 있다. 이러한 추가 연구결과로 공여간 구득 과정 중의 lipo-PGE₁ 투여 효과가 검증된다면 뇌사자 발생시 중환자실 관리 및 장기 구득 과정 중에 lipo-PGE₁을 투여함으로써 허혈 재관류 손상의 방지 및 간이식에서의 조기 무기능 이식의 가능성을 줄이는 한 방안이 될 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

개의 생체 부분간 이식시에 간 구득 및 이식과정에서 lipo-PGE₁을 투여한 경우 간효소치의 상승이 유의하게 억제되어 허혈-재관류 손상시 lipo-PGE₁의 허혈간 보호 효과를 확인할 수 있었다. 이러한 결과로 뇌사자 발생시 중환자실 관리 및 장기 구득 과정 중에 lipo-PGE₁을 투여함으로써 간이식의 조기 무기능 이식의 가능성을 줄이는데 일조를 할 수 있지 않을까 생각한다.

REFERENCES

- 1) Shaw S, Gordon R, Iwatsuki S, et al. Hepatic retransplantation. *Transplant Proc* 1985;17:264-6.
- 2) 김동구, 김인철. 간의 온열성 허혈 손상에서 Prostaglandin들의 보호효과. *대한외과학회지* 1990;39(6):747-54.
- 3) 김동구, 김용귀, 정은선. 흰쥐에서 간의 허혈-재관류 손상에 대한 Tacrolimus와 Prostaglandin E1의 보호효과. *대한외과학회지* 1999;57(4):465-74.
- 4) 이승규, 박광민, 최건무, 황 신, 하희선, 민병철, 정영화, 이영상, 송재훈, 김양수, 고윤석. 간 이식 후 Primary Dysfunction of Graft에 대한 Prostaglandin의 치료 효과. *대한이식학회지* 1995;9:181-5.
- 5) Olthoff KM, Wasef E, Seu P, et al. PGE₁ reduces injury in hepatic allografts following preservation. *J Surg Res* 1991;50:595.
- 6) Ouiroga J, Prieto J. Liver protection by prostaglandins. *Pharmac Ther* 1993;58:67.
- 7) Xu HS, Rosenlof LK, Pryett TL, Jones RS. Prostaglandin E1 increases survival with extended anhepatic phase during liver transplantation. *Ann Surg* 1994;220:53.
- 8) Grieg PD, Woolf GM, Sinclair SB, et al. Treatment of primary liver graft nonfunction with prostaglandin E1. *Transplantation* 1989;18:447.
- 9) Henley KS, Lucey M, Normolle DPN, et al. A double-blind randomized placebo-controlled trial of prostaglandin E1 in liver transplantation. *Hepatology* 1993;21:366.
- 10) Klein AS, Cofer JB, Pruett TL, et al. Prostaglandin E1 Administration following orthotopic liver transplantation A randomized prospective multicenter trial. *Gastroenterology* 1996;111:710.
- 11) Golub M, Zia P, Matsuno M, Horton R. Metabolism of prostaglandin A1 and E1 in man. *J Clin Invest* 1975;56:1404-10.
- 12) Inagaki H, Kurokawa T, Nonami T, Miwa T, Nakao A, Takagi H. The effect of intraportal administration of prostaglandin E1 on liver blood flow and liver function. *Hepato-Gastroenterology* 1999;46:2909-13.
- 13) Kawachi S, Shimazu M, Wakabayashi G, Tanabe M, Shirasugi N, Kumamoto Y, Karahashi T, Yoshida M, Kitajima M. Efficacy of intraportal infusion of prostaglandin E1 to improve the hepatic blood flow and graft viability in porcine liver transplantation. *Transplantation* 1997;64(2):205-9.
- 14) Wang X-E, Watanabe S, Oide H, Hirose M, Itatsu T, Takazakura Y, Yokoi Y, Sato N. Hepatic stellate cell contraction is inhibited by lipo-prostaglandin E1 in Vitro. *J Gastroenterol Hepatol* 1998;13(suppl):S14-18.
- 15) Sinclair S, Levy G. Eicosanoids and the liver. *Ital J Gastroenterol* 1990;22:205-13.
- 16) Tojimbara S, Ohsaki S, Teraoka S, Takahashi K, Kawai T, Tomo H, Agishi T, Ota K. Effects of prostaglandin E1 on transplanted kidneys in dogs by laser doppler blood perfusion monitor. *Transplant Proc* 1992;24:1349-50.
- 17) Emmons PR, Hampton JR, Herrison JG, Honour AJ, Mitchell JRA. Effects of prostaglandin E1 on platelet behavior in vitro and in vivo. *Br Med J* 1967;2:468.
- 18) Himmelreich G, Hundt K, Neuhaus P, Beckstein WO, Roissant R, Riess H. Evidence that intraoperative prostaglandin E1 infusion reduces impaired platelet aggregation after transfusion in orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 1993;55:819-26.
- 19) Beno DW, Espinal AR, Edelstein BM, Davis BH. Administration of prostaglandin E1 analog reduces rat hepatic and Ito cell collagen gene expression and collagen accumulation after bile duct ligation injury. *Hepatology* 1993;17:707-14.
- 20) Synder DS, Beller DI, Unanue ER. Prostaglandins modulate macrophage Ia. *Expression Nature* 1982;299:163-5.
- 21) Pollak R, Dumble LJ, Wiederkehr JC, Maddux MS, Moran M. The immunosuppressive properties of new oral PGE₁ analogs. *Transplantation* 1990;50:834-8.
- 22) Rappaport RS, Dodge GR. Prostaglandin E inhibits the production of human interleukin 2. *Exp Med* 1982;155:943-8.