심혈관 동종조직

세브란스 심장혈관병원 심장혈관외과

장의화* · 박한기†

심혈관 동종 조직(cardiovascular homografts)은 1965년 임상에 적용 된 후 다양한 처리 기법이 연구 개발되었다. 현재는 냉동 보존액의 사용과 함께 냉동속도를 조절하여 냉동 한 뒤 액체 질소 용기에 보관하다가 필요 시 사용하는 동결 처리 보존 기법이 가장 보편적으로 이용되고 있다. 심혈관 동종 조직은 장기적으로는 섬유화, 석회화 같은 퇴행성 변화가 온다는 단점이 있으나 혈류 역학적으로 우수하고 감염에 대한 저항성이 있어 심장 판막과 혈관 수술에 있어 대치할 재료가 필요한 경우에 선택적으로 사용되고 있다.

색인 단어: 판막 동종조직, 혈관 동종조직, 동결처리보존기법

Cardiovascular Homografts

Eui Hwa Jang, RN*, Han Ki Park, M.D., Ph.D†.

*Department of Cardiovascular Surgery, Severance Cardiovascular Hospital**
Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery,
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Republic of Korea †

Since cardiovascular homografts were introduced in 1965, various types of processing techniques have been developed. Currently, cryopreservation technique using cryoprotectant, controlled freezing rate and storage in liquid nitrogen container is most commonly used. Although cardiovascular homograft has disadvantage of degenerative changes such as fibrosis and calcification, but it has been used selectively as a substitute for cardiac valve or vascular surgery due to hemodynamic excellence and resistance to infection.

Key Words: Homograft valve, Homograft vessel, Cryopreservation method

서 론

심혈관 질환의 수술적 치료에는 심장 판막 혹은 혈관을 대체할 재료가 필요하다. 심혈관 동종 조직(cardiovascular homografts)은 인공 판막 혹은 인공 혈관에 비해 혈류 역학적으로 우수하며 혈액에

* Address for Correspondence: **Han Ki Park, M.D., Ph.D.**
Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Yonsei University College of Medicine
50 Yonsei-Ro, Seodaemun-Gu, Seoul, 120-752 Korea
Tel : 82-2-2227-4542, Fax : 82-2-313-2992, E-mail : hank@yuha.ac

접촉해도 혈전이 잘 생기지 않아 항응고제 치료가 필요 없고, 감염에 대한 저항성이 높다는 장점이 있어 심장 수술 혹은 혈관 수술 시 선택적으로 사용되고 있다. 동종 조직은 1903년 Hopner의 실험 동물을 이용한 경동맥-대퇴동맥 이식연구를 시작으로 발전하였고,[1] 이후 0~1°C 또는 -40°C의 냉장 혹은 냉동 보관 후 사용하는 방법,[2] 동결 건조법(freeze drying),[3] 급속 냉동하여 -80°C의 저온에 보관하는 냉동 보관법[3] 등의 다양한 처리 및 보관 방법이 개발되어 임상에 적용되었다. 그러나 1960년대부터 동종 조직이식 후 만성면역 거부 반응과 조직의 퇴화(degeneration)로 인한 문제점들에 대해 알게 되었고,[4] 이러한 단점들을 개선하기 위해 1980년대부터 Glycerol 혹은 Dimethyl Sulfoxide (DMSO)와 같은 동결 보호 용액을 사용하고 냉동 속도를 조절하여 -100°C 이하의 극저온에서 보관 후 사용하는 방법이 개발되었으며 현재는 이러한 동결 처리법(cryopreservation)이 가장 좋은 임상 결과를 나타내어 심혈관 동종 조직의 처리 및 보관에 가장 널리 이용되고 있다.[5]

심혈관 동종조직의 종류 및 적응증

심혈관 동종 조직은 크게 심장 판막 조직과 혈관 조직으로 분류할 수 있다.

심장 판막 조직

심장에는 4개의 판막이 있지만 승모 판막과 삼첨판막은 해부학적 구조가 복잡하기 때문에 동종 조직으로 잘 사용되지 않으며, 대동맥 판막과 폐동맥 판막이 주로 사용된다. 판막 조직이라고는 하지만 이 두 가지 판막 조직 모두 각각 상행 대동맥과 주 폐동맥이 부착된 형태로 채취하여 판막을 포함한 도관 형태의 조직을 준비하여 사용한다(Fig. 1).

수술로 판막을 치환해야 하는 경우에 사용할 수 있는 재료는 인공 재료를 이용해 만든 기계 판막(mechanical valve), 이종 조직(xenograft)을 채취하여 가공처리 후 만든 조직 판막(bioprosthetic valve), 뇌사자로부터 채취한 인간의 동종 판막(homograft valve)의 세가지 종류가 있다. 기계 판막은 내구성이 좋고 특별한 문제가 없는 한 영구적으로 사용할 수 있다는 장점이 있지만 혈전증이 생길 위험이 있어 평생 항응고제 요법이 필요하다.

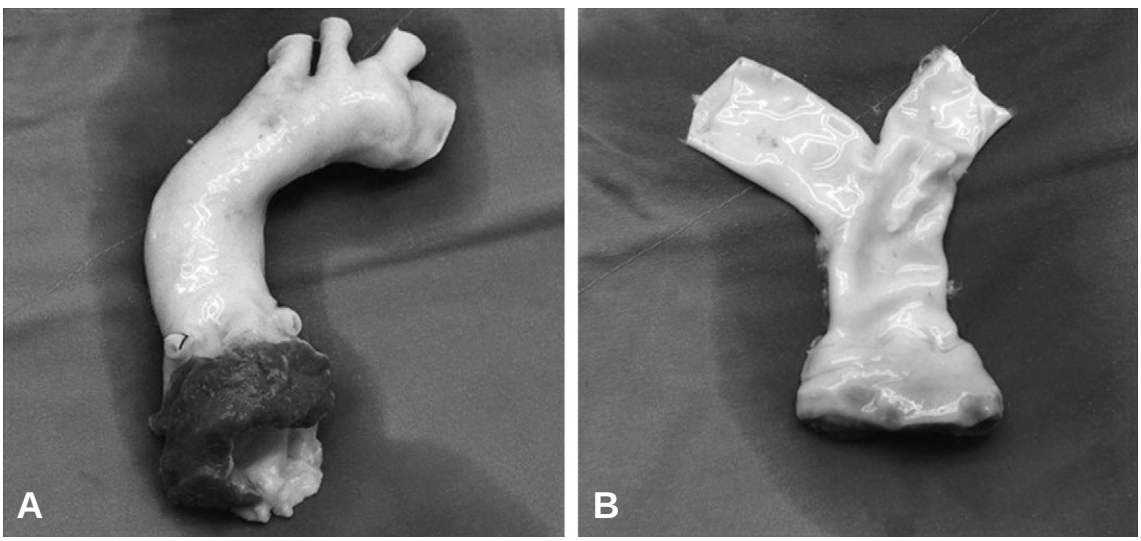

Fig. 1. 심장 판막 조직 (**A**) 상행 대동맥과 대동맥 궁을 포함한 대동맥 판막 조직, (**B**) 주 폐동맥과 좌 · 우 폐동맥 분지를 포함한 폐동맥 판막 조직

따라서 항응고제의 사용에 따른 위험과 불편을 감수해야 하고 임신을 계획하는 여성이나 노인에게는 사용에 제한을 받게 된다. 조직 판막은 혈전증의 위험은 적지만 시간이 지나면서 판엽이 변성되고 석회화되어 판막의 기능이 나빠짐에 따라 재치환술이 필요하게 된다. 동종 판막은 혈류학적 우수하며, 혈전의 위험도 적고, 감염에 대한 저항성이 높다는 장점이 있다.

동종 판막의 사용은1962년 Ross와 Barratt-Boyes가 동종 판막을 이용해 대동맥 판막 치환술을 성공한 이후 확산되었다.[6,7] 동종 조직은 앞에 기술한 특징으로 주로 소아나 임신을 원하는 여성, 판륜을 침범한 심내막염, Behcet's 환자의 판막 치환술, Ross 수술 등에서 선택적으로 사용되고 있다. 1967년 Ross에 의해 소개된 Ross 수술법은 대동맥 판막 치환술이 필요한 환자에게 자신의 폐동맥 판막을 대동맥 판막 위치에 이식하고, 폐동맥 판막을 떼어낸 자리에는 폐동맥 동종 조직을 이식하는 수술로, 소아나 젊은 나이의 환자들에게 성장 가능성과 혈류 역학적으로 우수한 효과가 증명되었다.[8] 그 외 심실과 폐동맥 사이의 폐쇄 혹은 심한 협착으로 인해 판막을 포함한 도관으로 우심실 유출로 재건술이 필요한 여러 가지 선천성심장기형의 치료에도 사용된다. 감염에 대한 내구성이 우수하므로 심내막염을 동반한 판막 질환에서 동종 판막을 이용하는 경우가 많다.[9-11]

혈관 조직

동종 혈관 조직은 크게 동맥 혹은 정맥으로 분류할 수 있고, 직경에 따라 대혈관과 소혈관으로 분류한다. 일반적으로 채취 부위의 해부학적 명칭으로 분류하게 된다. 대혈관에는 폐동맥 분지, 상행 대동맥, 대동맥 궁, 흉부 대동맥, 복부 대동맥이 포함되며 소혈관에는 신장 하대 동맥, 장골 동맥, 표재성 장간막 동맥, 대퇴 동맥, 요골 동맥이 가장 많이 사용된다. 정맥도 사용용도에 따라 각 부위의 정맥을 채취하여 사용하나 대개 장골 정맥, 대퇴 정맥, 복재 정맥 등이 주로 사용된다(Fig. 2).

혈관을 대체 할 수 있는 이식재는 환자 본인의 혈관(autograft), 인조 혈관(prosthetic vascular grafts), 동종 혈관(homograft vessel) 세 종류가 있다. 복재 정맥과 같이 기능적으로 없어도 되는 부위의 혈관을 다른 부위의 혈관 수술에 사용할 수 있는데 환자 본인의 자가 혈관은 감염의 위험이 적고, 면역 반응을 일으키지 않으며, 타인으로부터의 질병 전파의 위험이 없어 제일 안전하며 비용 면에서도 효과적이라는 장점이 있어 가장 선호되지만 사용 할 수 있는 조직이 제한적이다. 인조혈관은 다양한 모양과 크기의 혈관을 생산할 수 있어 제한 없이 사용할 수 있다는 장점이 있지만 감염에 취약하여 감염이 있는 경우에는 사용에 제한이 있다. 이에 반하여 동종혈관은 감염에 대해 저항성이 높고, 신체 여러 부위에서 혈관을 채취하면 다양한 종류와 크기의 조직을 보관하여 사용 할 수 있다는 점에서 유용하다.

동종 혈관 조직 사용의 가장 주요한 적응증은 혈관 질환 부위의 감염증이다. 혈관 감염증은 외상이나 침습적 처치 후 세균 및 곰팡이 균으로 인한 일차적 혈관 감염증과, 인공혈관이나 자가혈관을 이용해 혈관수술을 받은 후 발생한 이차적 혈관 감염증 모두 해당된다. 혈관 감염증 환자를 대상으로 인조 혈관을 이용한 환자 군과 동종 혈관을 이용한 환자 군을 비교한 연구가 보고되었는데 동종 혈관을 이용한 환자 군에서 수술 후 사망, 재수술, 수술 후 패혈증, 이차적 상처 봉합, 수술 후 재원 기간 및 항생제 치료 일수에서 우수한 성적을 보였다.[12,13] 만성 중증 하지 허혈성 질환(chronic critical limb ischemia) 환자는 대개 사용할 수 있는 자가 혈관이 제한적이고, 만성적으로 병을 앓고 있어 감염에 취약해진 상태이므로, 이러한 환자 군을 대상으로 동종 혈관을 적용하여 사망률뿐 아니라 사지 보존(limb salvage)에도 좋은 결과를 가져온 연구 결과도 보고되고 있다.[14] 소아의 대동맥 및 폐동맥 성형술에 폐동맥을 첩포(patch) 형태로 사용하기도 하며 간, 신장, 췌장 등의 장기이식의 혈관 문합 시 혈관 재건이 필요한 경우에도 동종 혈관 조직이 유용하게 사용된다.[15] 최근 장기 이식이 증가하여, 장기 이식 시 사용하는 혈관조직이 현재 국내 동종 혈관 조직의 가장 많은 수요를 차지하고 있다. 이외에도 흉부 대동맥 또는 복부 대동맥 동종 조직을 이용해 기관(trachea)과 기관용골(carina)을 재건하는 적용이 시

도되어 좋은 결과가 보고되기도 한다.[16]

심혈관 동종 조직의 채취, 처리, 보관 및 사용

심혈관 동종 조직은 비교적 건강했던 사람이 사후에 조직을 기증하는 경우에 얻을 수 있다. 적절한 기증자 선별을 거쳐, 사후에 조직을 채취하여, 살균, 포장과 동결 과정을 거쳐 극저온에 보관하다가 필요시에 해동, 세척 과정을 거쳐 조직이 필요한 환자에게 이식된다.

기증자 선별

심혈관 동종 조직의 이식은 세포가 사멸한 다른 동종 조직과는 달리 세포가 살아있는 타인의 조직을 환자의 몸 안에 이식하게 되므로 질병이 전파되지 않도록 기증자 선별에 각별한 주의를 요한다. 악성 종양, 간염과 후천성 면역 결핍증을 포함한 바이러스성 혹은 세균성 감염 질환, 원인이 명확히 밝혀져 있지 않은 희귀 질환 등의 여부를 반드시 확인해야 하며, 기증자 선별에 높은 윤리적 기준을 적용해야 한다. 심장 판막 및 혈관 조직은 정상인도 나이가 들며 동맥 경화증이 진행될 수 있으므로 가능한 젊은 기증자로부터 채취하는 것이 유리하다.

조직의 채취

동종 조직의 섬유아세포(fibroblast)는 판막과 혈관의 구조를 유지하고, 새포외 기질(extracellular matrix)의 리모델링에 중요한 역할을 하여 동종 조직의 내구성을 결정하는 요인이 된다. 기증자의 나이와 조직의 허혈 시간(ischemic time)이 섬유아세포의 생존율에 가장 큰 영향을 미친다. 기증

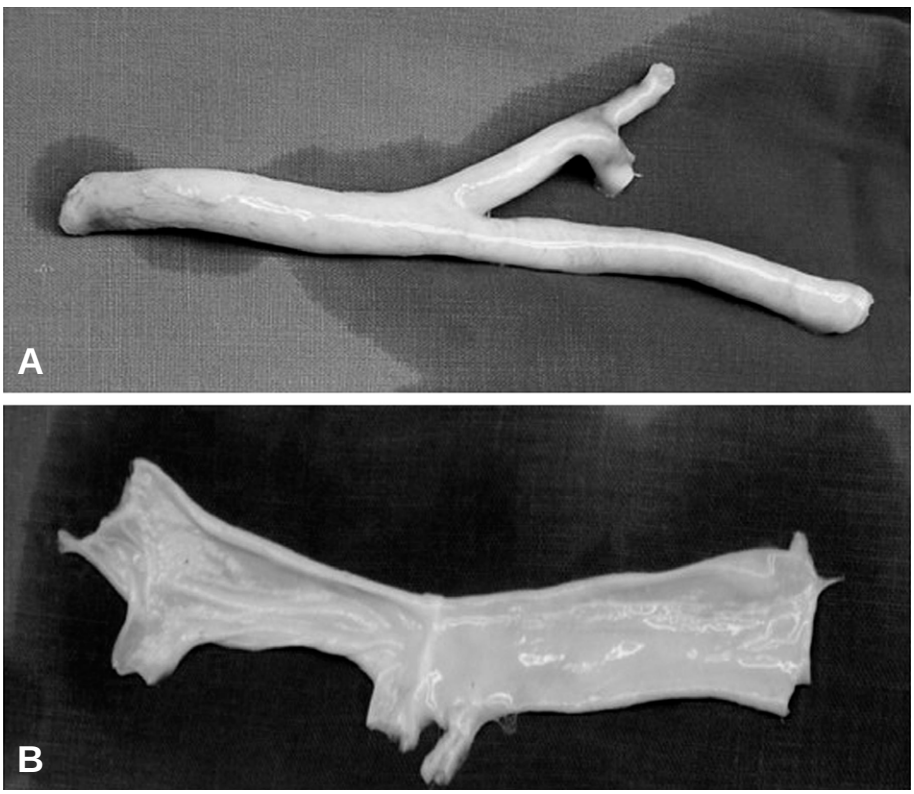

Fig. 2. 혈관 조직 (**A**) 내 · 외측 장골 동맥 분지를 포함한 장골 동맥, (**B**) 장골 정맥

자가 젊을수록 그리고 허혈 시간 짧을수록 섬유아세포의 생존율은 높기 때문에 기증자 선별과 조직의 채취 시 이러한 점을 염두에 두어야 한다. 허혈 시간은 심장의 활동이 완전히 멈춘 때로부터 조직을 떼어낼 때까지의 시간인 “warm ischemic time”과 조직을 떼어낸 후 박리하여 항생제 처리 직전까지의 시간인 “cold ischemic time”을 합하여 계산한다. 각 조직은행은 기증자 나이 및 허혈 시간에 대한 허용 규정을 정해놓고 있다.[17]

조직의 형태학적 평가

뇌사자로부터 조직을 채취한 뒤 채취한 동종조직을 관찰하여 형태학적 평가를 한다. 판막 및 혈관에 선천성 기형, 동맥경화성 죽종(atheroma), 결손(fenestration), 혈색소, 콜라겐(Collagen) 등의 유무, 위치, 정도를 관찰하고 결함이 있지만 수선 후 사용 가능한 지 혹은 사용에 부적합 한가에 대해 평가한다. 사용이 가능한 경우 크기와 길이를 측정하여 사용자에게 충분한 정보를 제공하여 보다 알맞은 이식 재를 선택할 수 있게 하여야 한다.[15]

조직의 처리

채취 후에는 살균과 동결 처리 과정을 거쳐 보관을 하게 되는데 이러한 처리 과정 중에는 혈관의 확장, 수축 기능, 면역 기능의 역할을 담당하는 내피세포(endothelial cell)와 단백질 합성 및 구조적 보존, 아교섬유질의 재합성(Resynthesizing)의 주요 역할을 담당하는 섬유아세포의 생존성을 보존할 수 있도록 해야 한다. 이러한 과정을 거쳐 다른 사람에게 이식할 수 있는 완전한 이식재가 된다.[18-20]

살균(Sterilization)

감염이 없는 기증자로부터 조직을 채취하더라도 기증자로부터 세균성 혹은 진균성 감염이 전파될 수 있고, 조직을 채취하는 과정 중 미생물에 오염될 가능성에 대비하기 위하여 조직을 채취한 뒤 항생제 처리를 하여 살균한다. 과거에는 살균효과를 높이기 위해 항생제 용액에 오랜 시간 인큐베이션을 하였지만 오히려 지나친 살균처리 과정이 조직에 세포독성을 일으켜 세포 생존성을 낮추는 것으로 보고되었다.[21] 이후 주요한 미생물을 효과적으로 살균하며 동종 조직 세포의 손상을 최소화 할 수 있도록 항생제의 종류와 농도를 조절하여 최적의 조직 멸균액 조성과 살균 시간을 찾아 적용하고 있다.[15]

포장 및 동결(Cryopreservation)

항생제 처리를 마친 조직은 동결보호용액이 포함된 배양액(RPMI1940)에 넣어 3중 포장(packing)을 한다. 포장 시에는 극저온에서 파손되지 않는 재료를 사용해야 한다. 동결 보호 용액으로 가장 일반적으로 사용하는 Dimethyl Sulfoxide (DMSO)는 실온에서는 세포 독성을 일으키므로 조직 포장을 마친 뒤에는 가능한 빨리 동결 처리를 시작해야 한다. 동결을 위해 극저온에 조직을 넣어 급속 냉동을 하는 방법을 사용하면 세포가 손상되므로 냉동 속도를 조절하는 냉동기를 이용하여 냉동을 한다. 여러 실험을 통해 분당 1도씩 조직의 온도를 떨어뜨리며 냉동하는 방법이 조직의 세포 생존성(cell viability) 및 구조적 보존(structural integrity)에 가장 우수한 것으로 보고되어 현재 가장 널리 이용된다.[18,22,23]

조직의 보관 및 사용

1. 보관(Storage)

동결 처리된 조직은 −150°C이하의 액화질소기화(vapor)상태에서 보관한다. −80°C의 초저온 냉동고(deep freezer) 또는 2~8°C의 냉장고에 보관되는 뼈, 연부 조직, 피부 조직, 양막 조직 등과 달리 보관기간이 세포 생존성 손실에 영향을 주지 않는 것으로 알려져 있어 일반적으로 10년의 보관 기간을 적용하고 있다.[20]

2. 해동(Thawing)

조직을 사용하기로 결정되면 조직을 냉동고에서

꺼내어 포장된 채로 따뜻한 식염수 혹은 42°C의 항온수조에 담가 해동한다. 그 전에 약 1분간 상온에서 적응하는 시간을 갖게 한 후 해동 단계가 이루어져야 갑작스런 온도 변화로 오는 조직의 손상 위험을 줄일 수 있다. 해동은 포장 상태에서 이루어지며 외부 포장의 두께, 종류, 수에 따라 열 전달 속도가 달라져 해동 속도에 영향을 미친다. 다양한 속도의 해동을 비교 분석한 결과 가능한 빠른 속도로 해동하는 것이 조직 세포생존성에서 우수한 것으로 보고되고 있다. 이는 동결 상태에서 조직을 보호하는 역할인 동결 보호 용액이 실온 환경에서는 조직에게 세포 독성을 일으키기 때문이다.[18,24]

3. 세척(Dilution)

세척 과정은 해동 후 조직으로부터 동결 보호 용액을 제거하기 위한 단계이다. 흔히 단계적으로 세척하는 방법을 사용하며 이 방법을 사용하는 경우 동결 보호 용액의 급격한 농도 변화가 가져오는 삼투 스트레스로부터 세포 손상의 위험을 줄일 수 있다. 단계적 세척법(multi-step)과 단일 세척법(single-step)을 비교한 연구에서, 조직의 세포 생존성에서 의미 있는 큰 차이를 보이지 않으며 오히려 단계적 세척과정에서 소모되는 시간을 줄이는 것이 효율적이라는 주장도 있다.[18,24]

결 론

동종 조직은 수술실에서 다루기가 용이하고 수술 부위 출혈이 적으며 혈류 역학적으로 우수하고 감염에 대한 저항력이 강하다는 이점이 있지만 조직간 물리학적 응력의 차이에서 오는 봉합 부위의 파열, 만성 면역 반응으로부터 오는 조직의 퇴행적 변성, 섬유성 석회화, 주위 조직과의 심한 유착과 같은 문제점들을 가지고 있다. 이러한 문제점을 해결하고 이식 후 장기간 내구성을 유지하기 위하여 각 분야에서는 다양한 접근 방식으로 연구하고 있다. 또한 조직의 채취 및 처리에 높은 윤리의식을 적용하고, 조직을 채취하고 처리하는 조직은행과 조직을 이식하는 임상 의료진과 개선점에 대해 서로 피드백을 갖고 논의하여야 환자에게 더욱 안전하고 우수한 이식 재를 제공 할 수 있을 것이다.[25,26]

참고문헌

1. **Watts SH.** VIII. The Suture of Blood Vessels. Implantation and Transplantation of Vessels and Organs. An Historical and Experimental Study. Annals of surgery. 1907;46(3):373-404.7.
2. **Gross RE.** Treatment of certain aortic coarctations by homologous grafts; a report of nineteen cases. Annals of surgery. 1951;134(4):753-68.
3. **Creech O, Jr., De Bakey ME, Cooley DA, Self MM.** Preparation and use of freeze-dried arterial homografts. Annals of surgery. 1954;140(1):35-43.
4. **Smith JM, 3rd, Dernbach TA, Cooley DA.** Treatment of aortic insufficiency with a descending aortic valvular homograft: 19-year follow-up and historical perspective. Cardiovascular diseases. 1980;7(2):206-13.
5. **Weber TR, Lindenauer SM, Dent TL, Allen E, Salles CA, Weatherbee L.** Long-term patency of vein grafts preserved in liquid nitrogen in dimethyl sulfoxide. Annals of surgery. 1976;184(6):709-12.
6. **Ross DN.** Homograft replacement of the aortic valve. The Journal of cardiovascular surgery. 1965;5(6):Suppl: 89-94.
7. **Barratt-Boyes BG.** HOMOGRAFT AORTIC VALVE REPLACEMENT IN AORTIC INCOMPETENCE AND STENOSIS. Thorax. 1964;19: 131-50.
8. **Ross DN, Radley-Smith R, Somerville J.** Pulmonary autograft replacement for severe aortic valve disease. British heart journal. 1969;31(6): 797-8.
9. **Goffin Y, Grandmougin D, Van Hoeck B.** Banking cryopreserved heart valves in Europe: assessment of a 5-year operation in an international tissue bank in Brussels. Eur J Cardiothorac Surg. 1996;10(7):505-12.
10. **Shimizu H, Takahashi T, Yamazaki M, Hasegawa N, Shin H, Yozu R.** Aortic root re-replacement with cryopreserved aortic homograft

in a patient with active composite valve-graft endocarditis. Keio J Med. 2008;57(2):111-4.

11. **da Costa FD, da Costa MB, da Costa IA, Poffo R, Sardeto EA, Matte E.** Clinical experience with heart valve homografts in Brazil. Artif Organs. 2001;25(11):895-900.
12. **Vogt PR.** Arterial allografts in treating aortic graft infections: something old, something new. Seminars in vascular surgery. 2011;24(4):227-33.
13. **Biro G, Szeberin Z, Nemes A, Acsady G.** Cryopreserved homograft and autologous deep vein replacement for infrarenal aorto and iliaco-femoral graft infection: early and late results. The Journal of cardiovascular surgery. 2011;52(2):169-76.
14. **Matia I, Janousek L, Marada T, Adamec M.** Cold-stored venous allografts in the treatment of critical limb ischaemia. European journal of vascular and endovascular surgery: the official journal of the European Society for Vascular Surgery. 2007;34(4):424-31.
15. **Jashari R, Van Hoeck B, Ngakam R, Goffin Y, Fan Y.** Banking of cryopreserved arterial allografts in Europe: 20 years of operation in the European Homograft Bank (EHB) in Brussels. Cell and tissue banking. 2013.
16. **Wurtz A, Porte H, Conti M, Dusson C, Desbordes J, Copin MC, et al.** Surgical technique and results of tracheal and carinal replacement with aortic allografts for salivary gland-type carcinoma. J Thorac Cardiovasc Surg. 2010; 140(2):387-93 e2.
17. **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(2 Suppl):S114-7.
18. **Feng XJ, van Hove CE, Mohan R, Andries L, Rampart M, Herman AG, et al.** Improved endothelial viability of heart valves cryopreserved by a new technique. Eur J Cardiothorac Surg. 1992;6(5):251-5.
19. **Neves JP, Gulbenkian S, Ramos T, Martins AP, Caldas MC, Mascarenhas R, et al.** Mechanisms underlying degeneration of cryopreserved vascular homografts. J Thorac Cardiovasc Surg. 1997; 113(6):1014-21.
20. **Mirabet V, Carda C, Solves P, Novella-Maestre E, Carbonell-Uberos F, Caffarena JM, et al.** Long-term storage in liquid nitrogen does not affect cell viability in cardiac valve allografts. Cryobiology. 2008;57(2):113-21.
21. **Park JC, Sung HJ, Lee DH, Park YH, Cho BK, Suh H.** Viability of cells in cryopreserved canine cardiovascular organs for transplantation. Yonsei medical journal. 2000;41(5):556-62.
22. **Narine K, Ing EC, Cornelissen M, Desomer F, Beele H, Vanlangenhove L, et al.** Readily available porcine aortic valve matrices for use in tissue valve engineering. Is cryopreservation an option? Cryobiology. 2006;53(2):169-81.
23. **Younghwan P. WY, Taeksoo K., Cheesoon Y., Shiho K., Hanki P.** finding the ideal freezing curve for tissues through indirect themophysical calculation. advances in Tissue Banking. 2003;7.
24. **Armitage WJ, Dale W, Alexander EA.** Protocols for thawing and cryoprotectant dilution of heart valves. Cryobiology. 2005;50(1):17-20.
25. **Mitchell RN, Jonas RA, Schoen FJ.** Structure-function correlations in cryopreserved allograft cardiac valves. Ann Thorac Surg. 1995;60(2Suppl): S108-12; discussion S13.
26. **Brockbank KG, Song YC.** Mechanisms of bioprosthetic heart valve calcification. Transplantation. 2003;75(8):1133-5.