

성전의 폐이식에서 PGE1과 Verapamil을 이용한 폐보존 연구

계명대학교 의과대학 홍부외과학교실* 및 병리학교실**

박 창 권* · 권 건 영**

= Abstract =

Lung Preservation by Using of PGE1 and Verapamil in Canine Lung Allograft Transplantation

Chang Kwon Park, M.D.* and Kun Young Kwon, M.D.**

Departments of Thoracic and Cardiovascular Surgery* and Pathology**, Dong-San Medical Center, Keimyung University, Taegu, Korea

Clinical lung transplantations have gradually developed through improved surgical techniques, adequate immunosuppressive agents, and the development of lung preservation methods. However a major prominent obstacle is the shortage of suitable donor lungs with regard to the lung's organ specificity. In a trial to partially overcome these problems, we used a canine left lung transplant model for evaluating the efficacy of preservation method added the PGE1 and Verapamil in flushing solution. Twenty-two mongrel dogs without discrimination between male and female, weighting 19~20 kg were used. Eleven left lung allograft transplants were made by matching pairs of dogs having similar body weight. Donor lungs were flushed with low potassium dextran glucose(LPDG) included with 200 µg PGE1 and 20 µmol/L verapamil(Group I, n=4), LPDG included with 200 µg PGE1(Group II, n=4) and LPDG only (Group III, n=3) respectively. Following this procedure the donor lung was placed in triple sterile plastic bags filled with preservation fluid and then stored at 10°C for 24 hours. We analyzed left graft lung function by mean PAP and PVR, arterial blood oxygen tension analysis, chest X-ray and computed tomogram, ultrastructural change in biopsy study and perfusion lung scan. Assessment for the graft lung function was done at 15 minutes, 1 hour and 2 hours respectively after reperfusion and after 3 days and 7days. Assessment for hemodynamics and arterial blood gas analysis in left graft lung was done by occluding the right pulmonary artery for ten minutes using pulmonary artery cuff(PA cuff). The results demonstrate that the mean PAP and PVR revealed in the preserved transplants with verapamil(Group I) were less than those observed in transplants without verapamil(Group II and Group III) as the control. Better gas exchange was noted in the lungs receiving verapamil in the flush solution(Group I), especially from 2hour of postreperfusion period. There are no significant differences among groups in the assessment of chest computed tomogram and perfusion lung scan. But The lung flushed with Group I solution demonstrated relatively well preserved ultrastructure compared with Group II and Group III solutions.

In conclusion, the present study suggests that LPDG solution included with PGE1 and verapamil provide better cellular preservation and transplanted lung function than LPDG only and LPDG with PGE1.

Key Words: Lung transplantation, LPDG, PGE1, Verapamil

* 본 연구는 1996년도 계명대학교 비사업구기금으로 이루어 졌음.

서 론

최근 임상적으로 폐이식은 향상된 수술 기법^{1~2)}, 효과적인 면역억제제의 개발 및 폐보존법의 발전^{3~4)}으로 점차적으로 술후 장기 생존자의 수가 늘고 있는 추세이다. 그러나 아직도 폐이식술의 완전한 성공을 이루기 위하여 많은 해결해야 할 문제점이 있으며 그중에서도 가장 시급한 것은 적절한 공여폐의 부족을 해결하는 문제이다. 이는 타 장기와 비교하여 폐장기가 갖고 있는 특수성때문이며 이러한 문제점을 부분적이나마 극복해 보고자 연구자들은 성경의 일측 폐이식술을 실험모델로하여 폐보존법의 발전을 도모하고자 하였다. 폐보존용액중 LPDG 액은 잘 알려져 있으며 PGE1을 폐관류시 첨가하여 24시간 안전한 폐보존의 가능성을 보고하고 있다⁵⁾. 그러나 이식폐의 재관류 초기에 허혈-재관류손상을 폐이식후 술후 관리에 많은 문제점으로 대두되었다. 따라서 허혈-재관류손상을 줄이는 목적으로 verapamil을 폐보존액에 첨가하여 폐관류를 시행한 후 24시간 폐보존후에 성경의 좌측 폐이식술을 시행하여 이식폐의 기능을 평가하고 흉부 진산화단층촬영과 폐관류 스캔을 실시하여 비교하였으며 폐관류직후, 24시간 폐보존후, 재관류직후 및 부검후 이식폐의 투과 및 주사진자 현미경적 관찰을 통해 LPDG 용액에 PGE1과 verapamil을 첨가한 24시간 폐보존 효과를 평가해 보고자 하였다.

재료 및 방법

1) 실험재료

실험에 사용된 동물은 체중이 19~20 kg되는 한국산 잡종 성경 22마리를 암수 구분없이 사용하였

으며 체중이 비슷한 성경끼리 공여견과 수용견으로 각각 11마리씩 나누었으며 폐관류보존액은 LPDG(low potassium dextran glucose)용액을 사용하였으며 공여 폐의 폐관류시에 PGE1과 verapamil을 사용하였다.

2) 실험방법

폐관류보존액 LPDG용액에 PGE1과 verapamil을 첨가한 용액(제 1 군)에서 폐관류보존효과를 관찰하기 위하여 비교군으로 LPDG용액에 PGE1을 첨가한 군(제 2 군)과 LPDG용액만 사용한 군(제 3 군)을 나누어 관찰하였다.

(1) 폐공여견 수술: 공여견에서 공여폐의 획득수술은 이 전의 발표된 논문에서 자세히 기술하였다^{5,35)}. 간략히 기술하면 건강한 성경 11마리를 폐공여견으로 하여 마취 전처치및 마취유지 목적으로 ketamine 10~15 mg/kg 근주, Sodium thiopental 10 mg/kg 정주 그리고 Atropine 0.6 mg과 Cefatrex 1.0 g을 정맥주사하고 기도삽관후 호흡기(Aika EUA-900 Ventilater)는 100% 산소흡입, 일호흡량은 500~550 ml 그리고 호흡수는 분당 12회에 맞추어 놓고 전신마취하에 우측 대퇴동맥에 18 gauge 혈관카테터를 넣어 동맥혈압을 추적과 동맥혈가스분석을 측정할 수 있게 하였고 사지에 심전도 전극을 천자하여 심박동을 계속 감시하였다. 흉골정중절개를 통하여 개흉하여 흉선을 절제하고 기정맥을 분리한 후 상하공정맥, 상행 대동맥, 폐동맥 및 기관을 박리하여 7번 silk나 vena cava tape를 이용하여 결찰에 대비하였다. 주폐동맥에 헤파린(500 U/kg)을 주입한 후에 6 F 대동맥카테터를 쌈지봉합으로 삽입하여 40 cm 높이에서 4°C 폐관류보존액 LPDG용액(Table 1)을 주입할 준비를 하였다. 제 1 군과 2 군에서는 폐관류전에 PGE1(200 µg)과 verapamil(20 µmol/L)혹은 PGE1(200 µg)을 각각 폐동맥에 투여하였다. 폐관류시에 폐관류압을 측정하였다. 상하공정맥을 결찰절단하고 하공정맥과 좌심방이는 열어 두었다. 관류액은 즉시 주입하여 폐

Table 1. Characteristics of experiment

Body weight(D/R) kg ± SE	Flushing time min. ± SE	Flushing pressure mmHg ± SE	Ischemic time hrs ± SE
19 ± 1.3/20 ± 0.8	4 ± 0.8	17 ± 2.1	21 ± 0.5

관류시켰다. 폐관류 후에 100%의 산소로 씨 흡입말기에 폐가 팽창된 상태에서 기관을 결찰분리하고 심장과 양주폐 모두를 적출해 내었다. 적출된 심폐불록은 폐관류직후 폐의 병리구조적 관찰을 위해 우측 폐상엽일부를 떼어 내고 폐관류액과 동일한 용액을 담은 비닐백에 3겹 공기밀폐포장하여 10°C 온도유지에서 24시간 공여폐보존 준비를 하였다.

(2) 폐수용건수술: 수용견에게 이식수술 역시 이전의 발표된 논문에서 자세히 기술되었으며^{5,15)} 여기서 간략히 소개하면 역시 건강한 성견 11마리를 폐수용견으로 하고 마취전처치는 공급견의 경우와 동일하며 그외 solumedrol 500 mg을 정주하였다. 기도삽관후 일호흡량을 20 ml/kg(일측폐환기시 15 ml/kg), 호흡수 분당 12회, O₂와 N₂O의 비는 50:50의 비로 유지하고 halothane은 0.5~1.0%에 맞추어 마취호흡기(Aika Anesthetic gas machine)에 연결하였다. 사지에는 역시 심전도진극을 천자하여 수술중에 계속 심박동과 심조율을 감시하였고 우측대퇴동맥에 18 gauge 혈관카테터를 넣어 동맥혈압측정과 동맥혈가스분석을 하였고 폐동맥압, 심박출량 및 폐혈관저항도를 측정하기 위하여 우측대퇴정맥에 Swan-Ganz 카테터를 주입하였으며 좌측하지정맥에 정맥카테터를 삽입하여 수술중에 하트만씨용액을 시간당 200 ml 주입시켰다. 좌측 양와위체위에서 베타딘으로 멀균소독후에 좌측 5번 늑간을 통해 개흉하였으며 가능한 한 외흉근의 절단을 피했다. 좌측 폐동맥은 첫 번째 좌측폐동맥지 하방에서 결찰 및 절단하고 우측 폐동맥을 박리하여 폐동맥cuff을 이용하여 임시 결찰에 대비하였다. 심낭을 절개하고 좌심방을 혈관감자로 폐쇄한 후 상, 중 및 하엽의 폐정맥지결찰부위를 절개하여 좌심방 끼리의 문함에 대비하였고 좌측 기관지는 원위부에서 절단하였으며 절단상부는 기관지간자로 폐쇄하였다.

10°C 폐관류저장액에 저장된 심폐불록에서 심장과 우측폐를 제거한 후 좌측폐는 좌심방의 일부가 문함에 적당하게 포함되기 위해 우측폐 종격엽(mediastinal lobe)으로 연결된 폐정맥개구부를 5~0 Prolene을 이용하여 봉합한후 충분한 길이의 좌심방영역을 확보하여 분리하였다.

분리된 우측폐는 24시간 폐관류보존후의 폐의 허혈손상의 관찰을 목적으로 각각의 균을 비교하기 위하여 병리조직검사를 시행하였다.

우선 수용견의 폐정맥지의 결찰부위를 절단하고 문합부위를 넓게 확장하였다. 공여폐의 좌심방간의 문합은 후벽부터 5~0 Prolene[®]을 이용하여 계속 전벽에 이르기 까지 연속 everting mattress봉합을 하였고 폐동맥은 첫번째 폐동맥지를 기준으로 역시 5~0 Prolene[®]으로 연속문합하였다. 마지막으로 기관지봉합은 기관삽관을 더 밀어 넣어 우측 한쪽폐의 환기만 실시하여 4~0 Vicryl[®]을 이용하여 기관지막성부위는 연속봉합 그리고 연골부위는 차례로 단순봉합(interrupted suture)하였다. 이식수술이 진행되는 동안에 10°C의 공여폐의 온도를 유지하기 위하여 상엽에 온도를 측정할 전극을 천자하여 주위는 쌈지봉합하여 계속 폐의 온도를 감시하였고 이식폐는 젖은 거즈에 싸서 10°C온도의 유지에 노력하였다. 좌측폐의 재관류시작시 폐동맥과 좌심방감자를 서서히 풀어 혈관내에 존재하는 기포를 제거하였으며 출혈이 확인된 후 각각의 문합부위의 결찰을 완결하였다. 기관지문합부의 공기누출을 확인하기 위하여 문합부위에 생리식염수를 흘렸다. 출혈및 공기누출이 없음을 확인한 후 흉관을 삽입한 후 개흉창을 봉합하면서 폐동맥 cuff는 피하조직내에 고정사킨 후 흉벽봉합을 마쳤다.

(3) 술후 관리: 수술을 마친 수용견은 재관류직후(약 30분후), 1시간 후, 2시간 후에 각각 혈역동학적 검사(Hewlett Packard 78534C Monitor이용)와 동맥혈가스분석을 시행하였고 재관류 2시간에 흉부X선촬영 및 흉부 전산화단층촬영과 폐관류스캔을 시행하여 이식폐의 팽창과 관류정도, 허혈 및 재관류손상정도를 관찰하였으며 폐동맥 cuff를 이용하여 우측주폐동맥을 일시 차단하여 이식폐의 기능을 평가하였다. 각 군에 따른 폐관류액의 효과를 분석하고자 이식폐의 기능을 관찰 비교하였다. 이식폐의 기능관찰은 수술직후, 술후 3일째, 술후 1주일까지 혈역동학검사, 동맥혈가스분석, 흉부 X선촬영, 흉부 전산화단층촬영 및 폐관류스캔을 각각 실시하였다. 술후 감염예방 목적으로 cefatrex 1.0 gm을 매일 1주일동안 근주하였다. 면역억제치료는 수용견수술 1시간전에 cyclosporin 15 mg/kg를 경구투여하였고 술후 1일째부터 cyclosporine 15 mg/kg를 경구투여하였다. 술후 관찰중에 거부반응이 의심되면 solumedrol 500 mg을 투여하였다. 이식후 7일 이후에는 사망시켜 이식폐의 병리학적 소견을 관찰하였다.

실험 결과

실험에 사용한 동물은 한국산 잡종견인 성견으로서 암수 구분없이 22마리가 사용되었으며 11례의 좌측 일측 폐이식술을 시행하였고 폐관류액은 LPDG용액에 PGE1과 verapamil을 첨가한 군(제 1 군: 4예), LPDG용액에 PGE1을 첨가한 군(제 2 군: 4예)과 LPDG용액만을 사용한 군(제 3 군: 3예)으로 나누어 사용하였다. 전체 실험군에서 사용된 성견의 체중은 공여견과 수용견에서 각각 19 ± 1.3 kg와 20 ± 0.8 kg에서 서로 비슷한 체중의 성견을 선택하였다. 폐관류시간은 4 ± 0.8 분 폐관류압은 17 ± 2.1 mmHg였다

(Table 1). 각 실험군의 모든 레는 7일 이상 생존한 실험견을 대상으로 하였다.

1) 혈액동학검사

평균폐동맥압 측정에서 조정치는 수용견의 좌측 폐절제후 평균폐동맥압 측정값이고 재관류 15분 뒤, 한 시간, 두 시간, 3 일 그리고 7일째 폐동맥 cuff를 이용하여 이식폐의 기능을 측정하였다. 재관류 15분 측정에서 제 1군의 17.3 ± 2.6 mmHg가 제 2, 제 3군의 33.7 ± 3.8 mmHg, 32.7 ± 6.2 와 비교하여 유의하게 제 1 군이 더 낮은 평균폐동맥압을 보였다($P < 0.05$). 술후 3일째는 제 1 군이 33.5 ± 4.2 mmHg이고 제 3 군이 41.7 ± 1.7 mmHg로써 제 1 군이 유의하게 낮은 차

Table 2. Data of Mean pulmonary artery pressure, Pulmonary vascular resistance and $\text{PaO}_2(\text{FiO}_2=0.5)$ according to Groups after PA cuff

Parameter Period group	MPAP(mmHg) \pm SE	PVR(dyne.s.cm $^{-5}$) \pm SE	$\text{PaO}_2(\text{mmHg}) \pm$ SE
Control			
I	18.5 ± 2.7	218.8 ± 35.6	165 ± 15.8
II	23.5 ± 4.6	322.5 ± 62.7	181 ± 23.5
III	26.0 ± 3.5	269.0 ± 42.4	2065 ± 27.5
Immediate			**
I	17.3 ± 2.6	296.5 ± 35.8	162 ± 7.6
II	33.7 ± 3.8 *	324.0 ± 53.7	154 ± 21.5
III	32.7 ± 6.2	438.3 ± 52.3	145 ± 3.7
1 hour			**
I	25.0 ± 8.7	269.0 ± 14.8	122 ± 29.7
II	27.5 ± 4.9	298.3 ± 55.2	198 ± 51.2
III	33.0 ± 5.7	390.0 ± 32.1	160 ± 3.3
2 hour			**
I	25.8 ± 6.3	300.0 ± 9.4	210 ± 15.7
II	32.5 ± 5.0	336.0 ± 38.9 **	150 ± 71.5
III	35.3 ± 2.0	420.0 ± 35.1	165 ± 7.6
3 day			
I	33.5 ± 4.2	380.0 ± 66.3	160 ± 11.5
II	34.0 ± 5.9	409.5 ± 24.4	143 ± 42.5
III	41.7 ± 1.7	513.3 ± 37.6	140 ± 15.2
7 day			
I	36.5 ± 4.8	410.3 ± 79.4 *	131 ± 15.2
II	38.5 ± 4.5	576.5 ± 53.6	145 ± 14.3
III	44.7 ± 1.5	550.0 ± 26.5	103 ± 8.8

*: $P < 0.05$ (Group I-Group II)

**: $P < 0.05$ (Group I-Group III)

이를 보였고($P<0.05$) 전체적으로 verapamil을 첨가한 LPDG용액에서 평균폐동맥압의 낮은 분포를 보였다(Table 2, Fig. 1).

폐혈관저항도(PVR)는 재관류 15분, 1시간 및 2시간 후 제 1군은 각각 296.5 ± 35.8 , 269.0 ± 14.8 및 300.0 ± 9.4 dyne.s.cm $^{-5}$ 로써 제 3군의 438.3 ± 52.3 , 390.0 ± 32.1 및 420.0 ± 35.1 dyne.s.cm $^{-5}$ 보다 유의하게 낮게 측정되었으며 술후 7일째에 제 1군의 410.3 ± 79.4 dyne.s.cm $^{-5}$ 가 제 2군의 576.5 ± 53.6 dyne.s.cm $^{-5}$ 보다 유의하게 낮게 측정되었다($P<0.05$)(Table 2, Fig. 2).

2) 동맥혈액가스분석

산소흡입농도 50%에서 동맥혈산소분압을 측정하여 재관류 1시간에서는 오히려 제 3군이 제 1군에 비해 높은 산소분압을 보였으나 재관류 2시간에서 제 1군이 210 ± 15.7 mmHg로써 제 3군의 165 ± 7.6 mmHg에 비해 유의한 차이를 보였다($P<0.05$). 재관류 2시간까지 동맥혈산소분압은 다양한 변화를 보였고 2시간후 전체적으로는 감소추세에서 제 1군이 비교적 높은 산소분압을 유지하였다(Table 2, Fig. 3).

3) 폐관류 스캔

좌측폐이식술후 2시간후, 3일후 및 7일후에 ^{99m}Tc 을 이용한 폐관류 스캔을 양쪽 용액군에서 시행하

여 전체 실험군에서 각각 $20\pm5.8\%$, $15\pm6.2\%$ 및 $12\pm1.1\%$ 이고 각 군의 뚜렷한 차이점을 발견할 수 없었으며 술후 이식폐의 염증, 허혈손상 및 일부에서 급성 폐이식거부반응으로 점차 이식폐의 관류와 기능이 감소되었다. 술후 3시간후 17%에서 술후 3일후 23% 증가와 술후 3일후 5%에서 술후 7일후 13%의 증가를 보인에는 조직소견에서 급성 거부반응의 양상을 보였으며 steroid(solumedrol 500 mg)에

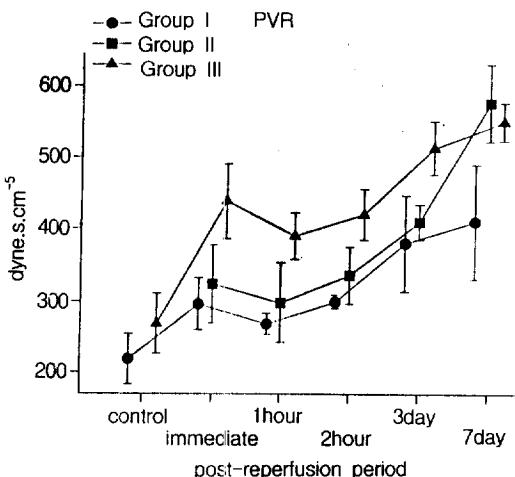


Fig. 2. Post-reperfusion pulmonary vascular resistance in each groups after PA cuff.

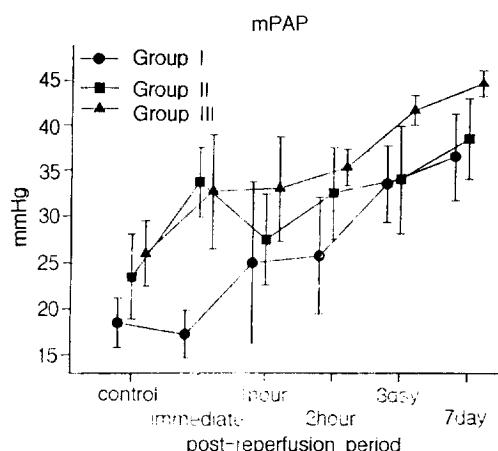


Fig. 1. Post-reperfusion mean pulmonary artery pressure changes in each groups after PA cuff.

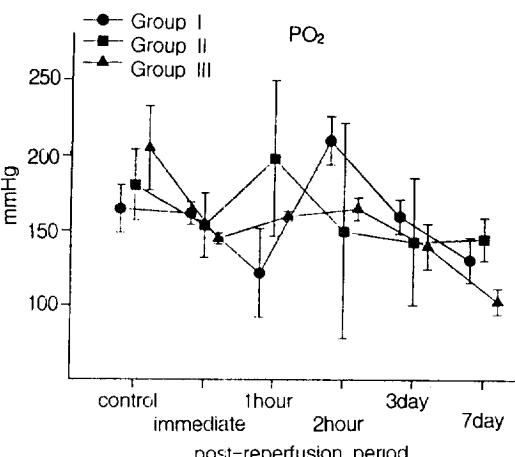


Fig. 3. Post-reperfusion PaO_2 changes in each groups after PA cuff($\text{FiO}_2=0.5$).

Fig. 4. Computed tomographic appearance on postreperfusion 2 hour(A), 3 day(B) and 7 day(C) in Group I(acute rejection in the third postoperative day).

의한 폐기능의 호전을 의미하였다.

4) 흉부 전산화 단층촬영

폐이식술 후 폐관류 스캔시에 단순흉부 X-선촬영과 흉부 전산화 단층촬영을 함께 시행하여 이식폐의 팽창정도와 단층촬영을 통해 폐영역별 폐음영의 불투명(폐침윤)정도를 Matsushima등⁶⁾이 소개한 폐음영이 맑은 경우 0점, 한쪽폐의 1/3을 침윤하고 경증의 소견을 보일 때를 1점, 1/3 ~ 2/3를 침윤하고 중등도의 소견일 때 2점 및 2/3 이상의 침윤을 보이고 심한 소견을 보일 때 3점으로 점수화하여 두 용액별 술후 3시간후와 3일후 및 7일후 평가하여 제 1군 용액에서 각각 1 ± 0.5 , 1 ± 0.5 및 2 ± 0.7 이며 제 3군 용액은 2 ± 0.2 , 1 ± 0.7 및 2로써 제 1 군 용액이 제 3 군 용액보다 수술직후에 폐음영의 불투명도가 덜한 것으로 관찰되었으나 통계적 유의성은 없었다

Table 3. Roentgenographic grading score in transplanted lung by CT

Solution	Post-reperfusion			
	Period	2hour	3day	7day
Group I(score)		1 ± 0.5	1 ± 0.5	2 ± 0.7
Group III(score)		2 ± 0.2	1 ± 0.7	2

(Table 3).

Fig. 4는 재관류 2시간후, 3일후 및 7일후에 PGE1과 verapamil을 첨가한 군 가운데 술후 3일째 거부반응으로 매일 methylprednisolone 500 mg을 3일 투여 후 폐음영이 7일째 호전되는 양상을 보여 주고 병리조직소견에서도 이식폐의 급성거부반응으로 판명되었다.

Fig. 5. Donor lung tissue following preservation(Group II or Group III) shows more thickening, irregular arranged basal lamina, partially stroid type I epithelial cells(arrows) and markedly endothelial cell changes with tactile-like projection into the lumina(open arrows). Uranyl acetate and lead citrate, $\times 8,500$. AS: alveolar space AC:alveolar capillary BL:basal lamina.

5) 별리조직학적 소견

관류를 시킨후 폐조직에서는 부분적으로 폐포구조의 허탈이 관찰되면서 폐포 상피세포에서 국소적인 종창을 볼 수 있었고, 간질에는 경한 부종을 보였다. 폐포 모세혈관들은 형태가 불규칙하게 되었으나 혈관 내피세포의 종창은 뚜렷하지 않았고 폐쇄막(tight junction)도 잘 유지되었다. 24시간 폐보존후 소견에서 LPDG용액을 단독으로 관류 및 보존용액으로 사용한 군(제 3 군)에서는 폐포허탈, 폐포상피세포의 종창, 파괴, 불규칙한 기저막 배열 및 비후가 뚜렷하였다. 그리고 폐포 모세혈관에는 배열이 불규칙하고 수포형성과 촉각모양의 돌기를 보였고, 간질의 비후 및 폐포강내의 대식세포의 탐식 소견을 볼 수 있었다. 제 2 군에서는 제 3 군과 비교하여 비슷한 소견을 보였으며 LPDG용액에 첨가제인 PGE1과 verapamil을 함께 사용하였을 때(제 1 군)는 폐조직에 나타난 초미형태학적 변화가 다소 경미하였다(Table 4, Fig. 5, 6). 재관류 과정후 채취한 폐조

Table 4. Comparison of ultrastructural changes among groups

Ultrastructural changes	Group I	Group II	Group III
1. Alveolar collapse	+	++	+/-
2. Epithelial changes			
cell debris	+	+	-/+
swelling	++	+	+/-
irregular basal lamina	+	++	+/-
II cells prominent	-/+	++	-/+
3. Capillary changes			
irregularity	-/+	+/-	+
microvesicles, blebs	++	++	+/-
tactile projection	+	++	+/-
tight junction	WP	WP	WP
4. Macrophage activity	-	+	/++
5. Interstitium			
edematous thickening	+	+/-	-/+
collagen deposition	+	+/-	+/-

-: absent, +: mild, ++: moderate, +++: prominent
WP: well preserved

Fig. 6. Donor lung following preservation using LPDG solution and additional administration of Verapamil and PGE1 (Group I solution). The alveolar epithelial cells show mild to moderate swelling, bleb or vacuolization(arrow) and desquamated cell debris(asterisk) into the alveolar lumina. The alveolar walls show mild to moderate edematous thickening. Uranyl acetate and lead citrate, $\times 6,800$. AS:alveolar space AC:alveolar capillary IS: interstitium

직에서는 폐포강내에 유리질막 물질을 포함한 세포 잔해물이 다수 관찰되었고, 폐포강내에는 폐포대식 세포가 흔히 관찰되면서 유리된 세포잔해물을 탐식하였다. 폐포모세혈관 내피세포는 현저한 종창, 수포형성 및 촉각 모양 돌기를 관찰할 수 있었다. 재관류후 초래된 폐조직의 형태학적 변화는 보존과정 후 나타난 조직손상에 비해 더욱 심한 손상을 보였다. 주사전자현미경적 관찰에서는 모두 폐동맥 내막 표면이 미만성으로 둥글거나, 타원형을 나타내는 내피세포의 종창이 관찰되었고 부분적으로는 종창된 내피세포가 모여 덩어리(conglomeration)를 만들면서 혈관 내강으로 돌출하는 소견을 볼 수 있었다(Fig. 7).

고 찰

현재 폐이식은 점차 발전되고 있으며 술후 생존율도 향상되고 있다고 보고되고 있다⁷⁾. 그러나 임상

폐이식술에서 아직도 큰 난제점은 이식할 적절한 공여폐의 부족현상이다. 이에 대한 주요한 이유는 먼저 폐장기는 타 장기에 비해서 쉽게 감염이 될 수 있고 장기 수혜자에게 적절한 크기의 공여폐를 맞추기 어려우며 마지막으로 허혈-재관류 후에 야기되는 폐손상등이라 할 수 있다. 세계적으로 폐이식 분야는 현재 공여폐의 선택, 보존 및 이식술 후에 합병증을 줄이기 위한 방편에 관한 연구에 관심이 크고 많은 연구가 이루어지고 있으나 급성 및 만성 거부반응에 대한 적절한 처치와 공여폐 보존시간의 연장과 보존방법 개선과 보존액 개발 등 해결할 과제들이 많이 남아있다. 이 중에 이식폐의 허혈-재관류 손상에 대한 예방적 효과에 관한 연구는 실험연구에 중요한 관심이 되고 있다.

연구자들은 세포외액성 용액인 modified Euro-Collins액과 LPDG용액을 24시간 폐보존후 비교실험에서 세포외액성 용액에서도 24시간의 안전한 폐보존

Fig. 7. Scanning electron micrograph of pulmonary artery following preservation using Group I solution shows individually endothelial cell swelling(small asterisks) or focal destruction(arrows), and conglomerated endothelial cell lesion(large asterisks). SEM, $\times 2,300$.

효과의 가능성을 평가하였다⁵⁾. 그러나 장기간 폐보존후 이식견에서 초기의 폐기능의 악화로 말미암아 사망율이 높게 나타났다. 이는 허혈 및 연이은 재관류 손상에 따른 이식폐의 비가역적이고 극심한 황폐화에 기인된다고 보고 있으며 많은 연구보고들이 심근이나 신장의 허혈-재관류 손상에 대해 산소프리라니칼청소제나 칼슘길항제를 사용하여 예방하는 효과를 입증하고 있다^{8~9)}. 허혈-재관류 손상은 일반적으로 세포내 칼슘이온의 증가를 야기하고 혈관근육내 경막칼슘유입을 일으킨다. 공여폐 적출시에 prostaglandin E1(PGE1)의 투여는 말초폐혈관까지 폐관류액의 균등한 관류를 일으켜 폐실질내에서 대사되어 폐동맥의 혈관확장과 항혈소판효과가 있다고 한다. 본 연구에서 LPDG용액에 PGE1과 verapamil을 첨가한 군에서 LPDG단독이나 PGE1만을 첨가한 군에 비해 수술 초기에 더 나은 동맥혈산소분압과 더 낮은 폐혈관저항도 및 평균폐동맥압 그리고 24시간 폐보존후 전자현미경검사에서 다른 군에 비해 폐포

의 손상정도가 덜 한 것으로 판명되어 verapamil의 이식폐의 허혈-재관류손상을 어느정도 예방하는 효과를 알 수 있었다. 이와같은 손상에 대한 예방효과 기전은 첫째로 허혈 및 허혈후 재관류는 폐포의 모세혈관막의 손상을 가져오고 이어서 혈관투과장벽의 파괴로 말미암아 칼슘이온이 유입된다. verapamil은 부종과 모세혈관의 누출의 증가에 따른 미세혈관저항 증가를 방지한다. 둘째로 McMurtry 등¹⁰⁾은 verapamil이 폐혈관수축제인 prostaglandin F2a와 angiotensin 2와 비교할 때 특히 저산소상태(2.5% O₂)에서 폐혈관수축을 억제하는 것을 발견했다. 셋째로 Hachida 등¹¹⁾은 verapamil로 처리된 폐는 재관류후에 허혈조직에서 방출된 효소들이 현저히 감소되어 허혈손상을 예방한다고 하였으며 또한 그들은 폐동맥 및 기관지를 폐쇄하여 상온 허혈손상이 폐혈관확장제인 hydralazine보다 verapamil에서 현저히 덜 하였다고 하였다. 넷째로 Schwarz 등¹²⁾과 Hamman 등¹³⁾은 혈장 및 조직 verapamil의 농도와 분포는 폐에

서 가장 높고 그 다음이 신장, 간 그리고 심장순서라고 하였고 이것은 verapamil이 폐보존에 중요한 역할을 하는 것을 의미한다고 했다. 재관류손상은 소위 'Ca paradox'라고 불리는 세포막의 투과성의 변화에 의해 세포내로 칼슘이온의 유입이라고 알려져 있다. 세포의 리보솜(ribosomes)의 구조는 완전한 허혈동안은 잘 유지되지만 재관류 이후에 빠르게 변성이 되어 이는 지속된 단백질 생합성의 심한 장애를 초래한다¹⁴⁾. 허혈후 세포는 감소된 세포막의 통합(integrity)과 adenosine triphosphate 발생을 위한 저하된 기작(machinery) 때문에 재관류동안에 특이한 위험에 놓이게 된다. 칼슘이온의 유입은 세포사망에 이르는 마지막 공통 과정으로 연루시켜왔다. 칼슘이온의 증가는 thromboxane과 leukotriene을 활성화시키고 이 복합체는 폐내에서 혈소판의 활성화와 혈관활성 prostaglandin의 분비를 유도하며 이것은 폐혈관저항도(PVR)과 모세혈관의 투과성을 증가시킨다¹⁵⁾. 이런 일련의 관정은 재관류 손상과 부합되며 칼슘이온길항제는 혈소판의 활성을 감소시키고 혈관수축제 prostanoid과 산소유리기의 생성을 위한 기질을 제한하며 미세혈관의 관류를 유지시켜서 많은 이런 기전의 과정을 수정시킬 수 있다. 폐의 장기보존을 위한 verapamil의 효과에 대한 또 다른 가능한 설명은 조직관류의 향상을 들 수 있다. 조직의 무산소상태는 혈관근육세포의 수축을 야기하고^{16~17)} 이 수축은 혈류를 감소시킨다. 혈액이 저산소상태에 빠지면 적혈구의 탄력성(plasticity)되어 이는 혈액의 점도의 증가, 말초혈관저항의 증가 및 좁은 혈관을 통한 혈류의 장애를 더욱더 초래하게 된다¹⁸⁾. 이와 같은 악순환은 칼슘이온의 차단제에 의해 두 가지 측면에서 막을 수 있는데 첫째, 동맥폐쇄의 혈관경직성분들(vasospastic components)을 중화하고 둘째로 절혈구의 칼슘이온의 함량을 줄이므로 가능하다.

이와같은 유용한 복합효과는 혈관을 통한 혈류의 저항을 줄이고 재관류후에 조직으로 혈류의 공급을 증진시킨다. 공여폐가 제공되어 공여폐를 최적의 조건하에서 보존함으로써 허혈로 인한 조직 손상을 최소화하는 문제에 연구 관심이 집중되고 있다¹⁹⁾. 공여폐는 관류 및 보존의 관정을 거치면서 흔히 허혈성 손상을 받으며, 이식 후 혈관 재관류 때도 호중구의 침윤과 함께 산소유리기가 생성되어 조직에 더욱 손상을 초래한다^{20~21)}. 관류 및 보존과정때 나

타나는 변화중 혈관 내피세포는 부분적으로는 보존하는 과정에서 야기될 수 있으며, 혈류 차단에 의해 서 그리고 저온으로 인해서 혈관이 수축되어 허혈상태가 초래 될 수 있다^{21~22)}. 혈관 내피세포의 손상은 보존 시간이 길어 질수록 그 정도가 심해지며 흔히 내피세포의 팽창, 소실, 수포형성 및 기저막으로부터 내피세포의 탈락 등의 소견을 보여 준다²³⁾. 간질내 부종 소견은 폐보존액에 의해 초래되는 혈관 내피세포의 투과성 증가로 인해서도 초래된다²⁴⁾. 본 연구에서는 관류 과정후 폐포 모세혈관의 형태가 불규칙 해지면서 내피세포의 종창, 수포형성, 파과 및 촉각모양 돌기를 볼 수 있었다. 폐포 상피에서는 I형 폐포상피세포의 종창과 파괴를 볼 수 있었고 가끔 기저막으로부터 박리되면서 세포잔해물들이 폐포강내로 유리되면서 대식세포에 의해 탐식되는 소견을 볼 수 있었으며, 파괴된 폐포상피세포의 자리에는 II형 상피세포의 증식을 관찰할 수 있었다. 폐포강 및 간질내에 염증세포의 침윤은 관찰되지 않았으며 내피세포 및 폐포 상피세포의 조직 손상은 모두 보존 기간중 야기된 허혈성 손상으로 판단되었다. 최근 페이식에 관한 연구에서는 폐보존의 방법 개선과 더불어 폐보존액 선택과 다양한 첨가제를 사용하여 폐보존의 효과를 높이고 있다. 공여폐의 보존방법과 보존액의 종류는 매우 다양하며 과거에는 저온 crystalloid용액, 냉혈액을 포함한 보존액을 사용하거나, 혈액으로 관류를 계속시키면서 공여폐를 냉각시켜서 운반하는 방법 등을 시도하였고^{25~27)} 최근에는 Euro-Collins용액, Belzer용액, University of Wisconsin(UW)용액, Hypertonic citrate용액, LPDG용액을 보존액으로 사용하고 첨가제로서 PGE1, verapamil, prostacyclin, allopurinol, nifedipine 등을 함께 사용하여 폐보존효과를 개선시키려고 시도하고 있으나 아직도 개선의 여지가 남아 있다^{23,28~30)}. Stanford대학의 페이식 연구팀은 저온 crystalloid관류 용액을 사용하여 6시간동안 심폐관류를 실시하였고, 저온 관류과정에서 야기되는 혈관수축 반응을 폐혈관의 확장제인 PGE1을 사용하여 감소시키므로써 허혈에 의한 조직 손상을 줄일 수 있었다^{26,31)}. PGE1은 혈관확장 기능외에 혈소판 응집을 감소시키면서, 세포막의 통합성(integrity)을 유지시켜 혈관내피세포의 종창을 감소시키는 작용이 밝혀졌다³²⁾. modified Euro-Collins(MEC)용액은 장기이식에서 가장 보편적으로

널리 쓰이는 보존액으로써 세포내액성 용액으로 고 칼륨제제임에도 불구하고 신장 또는 간에서 양호한 보존효과를 얻고 있다. 그러나 폐조직에서는 아직까지 타장기에 비해서 보존효과가 그다지 높은 편이 아니다²³⁾. 최근 세포외액성 용액이며 저칼륨제제인 LPDG용액을 공여폐의 관류 및 보존액으로 사용하고 있으며 그 보존 효과가 문헌에 보고 되고 있다^{23~25)}. 저자들은 LPDG용액과 MEC 용액의 폐보존의 비교 실험에서 MEC용액에 PGE1과 verapamil을 함께 사용한 예에서 조직의 초미형태학적 변화가 현저하였으며 LPDG용액에 이들 첨가제를 함께 사용한 예에서는 그 변화가 경미함을 볼 수 있었다²⁵⁾. 본 연구에서는 MEC보다 장기 폐보존에 우수성이 입증된 LPDG용액에서 PGE1과 verapamil을 첨가하여 이들 첨가제의 허혈-재관류 손상의 영향에 대해 분석하였다. 이 분석에서 LPDG단독으로 사용하거나 PGE1만을 첨가한 군보다 관류보존후 더 나은 공여폐의 초미형태학적 구조를 보였고 이식폐의 기능도 비교적 나은 상태를 보였다. 첨가제를 함께 사용한 LPDG용액이 MEC용액보다 조직손상을 보다 적게 초래한다는 Yamazaki 등²⁶⁾의 보고도 있으며 실제 LPDG용액의 임상에의 시도를 위하여 이와같은 첨가제의 사용에 따른 병리학적 변화와 이식폐의 기능과의 명확한 관련을 규명하는 것이 연구의 과제라고 할 수 있다.

이식폐의 조직학적 평가에서 Sundaresan 등²³⁾은 수술에서 생존한 실험례들의 슬라이드 조사에서 간질 조직 및 폐포의 부종, 중등도의 혈관울혈, 폐포의 출혈 및 구조적 파괴 등의 조직 소견을 보였다고 했다. 아울러 같은 조직 슬라이드내에서도 상당한 다양성이 있다고 하였다. Haverich 등²⁷⁾이 지적한 바와 같이 Veith 등²⁷⁾이 보도한 이러한 조직변화들의 다양함과 이질성(heterogeneity)은 그와같은 변화가 기능적 황폐화와 서로 상호관계가 없음을 의미한다고 하였다. 그리하여 조직의 형태학은 광범위한 조직학적 형태조사가 이루어 지지 않는 한 폐보존을 평가하는 지표로 삼기에는 부적절하다고 하였다. 이는 본 연구에서도 지적이 되었고 향후 연구의 과제로 사료된다.

결 론

폐관류보존액 LPDG용액에 PGE1과 verapamil을 첨가(제 1 군)하여 24시간 폐보존후 성경의 좌측 일측 폐이식을 시행하여 폐보존효과를 평가하였다. 비교 군으로 LPDG와 PGE1을 사용한 군(제 2 군)과 LPDG 단독사용 군(제 3 군)을 이용하였다.

1) 평균폐동맥압과 폐혈관저항도(PVR)에서 제 1 군은 비교 군에 비해 재관류직후에서 7일째까지 비교적 낮은 분포를 보였고 특히 재관류직후에서 2시간까지 제 3 군에 비해 유의한 차이를 보였다($P < 0.05$).

2) 동맥혈산소분압은 재관류 2시간까지 다양한 변화를 각 군에서 보였고 2시간 이후부터 제 1군이 비교적 높은 분포를 보였다.

3) 폐관류 스캔에서 폐관류 차이점과 흉부단층촬영에서 폐음영도의 뚜렷한 차이점을 각 군에서 발견할 수 없었다.

4) 24시간 폐보존후 전자현미경적 병리 소견에서 제 1 군은 타 군에 비해 폐조직 손상이 보다 경미하여 폐조직의 보존효과가 보다 우수함을 보였다.

결론적으로 LPDG용액에 PGE1과 verapamil을 첨가하여 24시간 폐보존에서 verapamil의 허혈-재관류 손상의 억제를 평가할 수 있었다.

REFERENCES

- Cooper JD, Pearson FG, Patterson GA, Todd TRJ, Ginsberg RJ, Goldberg M, DeMajo WAP: Technique of successful lung transplantation in humans. *J Thorac Cardiovasc Surg* 93: 173-81, 1987
- Pasque MK, Cooper JD, Kaiser LR, Haydock DA, Triantafillou A, Trulock EP: Improved lung transplantation: rationale and initial clinical experience. *Ann Thorac Surg* 49: 785-91, 1990
- Haverich A, Scott WC, Jamieson SW: Twenty years of lung preservation-a review. *J Heart Transplant* 4: 234-40, 1985
- Date H, Lima O, Matsumura A, Tsuji H, d'Avignon DA, Cooper JD: In a canine model, 10°C is that at 4°C. A comparison of two preservation temperatures on lung function and on adenosine triphosphate level measured by phosphate-31 nuclear magnetic resonance. *Transplant Proc* 20: 205-8, 1988

- nance. *J Thorac Cardiovasc Surg* 103: 773-80, 1992
- 5) 박창권, 박원균, 권건영, 김진모, 전석길, 유영선: Low Potassium Dextran Glucose(LPDG)용액시간 폐보존 연구. *대한이식학회지* 10(1): 1-14, 1996
 - 6) Matsushima S, Montefusco CM, Shoji T, Veith FJ: Successful 24-hour preservation of allotransplantation using verapamil. *Transplantation Proceedings* 25(2): 2110-23, 1993
 - 7) Cooper JD: The evolution of techniques and indications for lung transplantation. *Ann Surg* 212: 249-56, 1990
 - 8) Nayer WG, Ferrari R, Williams A: Protective effect of pretreatment with verapamil, mitochondrial function in the ischemic and reperfused myocardium. *Am J Cardiol* 46: 242-8, 1980
 - 9) Gingrich GA, Baker GR, Lui P, Stewart SC: Renal preservation following severe ischemia calcium channel blockade. *J Urol* 134: 408-10, 1985
 - 10) McMurry IF, Davidson AB, Reeves JT: Inhibition of hypoxic pulmonary vasoconstriction by calcium antagonists in isolated rat lungs. *Circ Res* 38: 99-104, 1976
 - 11) Hachida M, Morton DL: The protection of ischemic lung with verapamil and hydralazine. *J Thorac Cardiovasc Surg* 95: 178-83, 1988
 - 12) Schwarz JB, Todd E, Abernethy DR: Steady state verapamil tissue distribution in the accumulation. *Pharmacology* 32: 307-12, 1986.
 - 13) Hamann SR, Todd GD, McAllister RG Jr: The pharmacology of verapamil.v. Tissue and norverapamil in rat and dog. *Pharmacology* 27: 1-8, 1983.
 - 14) Cooper HK, Zalewski T, Hossman KA: The effect of ischemia and recirculation on protein rat brain. *J Neuropathol Exp Neurol* 28: 929-34, 1977
 - 15) Hoffner JE, McMurry IF, Repine JE: Platelet activating factor stimulates platelets to produce pulmonary hypertension and edematous lung injury in isolated perfused rabbit lungs. *Clin Res* 30: 430A, 1982
 - 16) VanNueten JM, Vanhoutte PM: Improvement of tissue perfusion with inhibitors of calcium. *Pharmacol* 29: 479-81, 1980
 - 17) Vanhoutte PM: Effects of anoxia and glucose depletion on isolated veins of the dog. *Am J Physiol* 230: 1261-8, 1976
 - 18) Winegar CD, White BC: Physiology of resuscitation. *Emerg Med Clin North Am* 1: 479-95, 1983
 - 19) Steven J, Raffin I, Baldwin J: The status of transplantation of the human lung. *Surg Gynecol Obstet* 169: 179-85, 1989
 - 20) McCord JM: Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue injury. *N Engl J Med* 312: 159-63, 1985
 - 21) Bando K, Tago M, Teraoka H, Senio S: Extended cardiopulmonary preservation for heart-lung transplantation: a comparative study of superoxide dismutase. *J Heart Transplant* 8: 59-66, 1989
 - 22) Block ER, Patel JM, Angelides KJ, Sheridan NP: Hyperoxia reduces plasma membrane fluidity: a mechanism of endothelial cell dysfunction. *J Appl Physiol* 60: 826-35, 1986
 - 23) Pickford MA, Green CJ, Sarathchandra P: Ultrastructural changes in rat lungs after with and without preservation. *Int J Exp Pathol* 71: 513-28, 1990
 - 24) Hall SM, Odom N, McGregor CG, Haworth SG: Transient ultrastructural injury and repair capillaries in transplanted rat lung: Effects of preservation and reperfusion. *Am J Respir Cell Mol Biol* 7: 49-57, 1992
 - 25) Hakim M, Higenbottam T, Bethune D: Selection and procurement of combined heart for transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 95: 474-79, 1988
 - 26) Starkey TD, Sakakibara N, Hagberg RC: Successful six-hour cardiopulmonary hypothermic crystalloid flush. *J Heart Transplant* 5: 291-7, 1986
 - 27) Haverich A, Scott W, Jamieson S: Twenty years of lung preservation-a review. *J Heart* 1985
 - 28) Date H, Matsumura A, Manchester JK, Obo H: Evaluation of lung metabolism canine lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 105: 480-91, 1993
 - 29) Kawahara K, Itoyanagi N, Takahashi T: Transplantation of canine lung allografts for 24 hours. *Transplantation* 55: 15-8, 1993
 - 30) Pukas JD, Cardoso PFG, Mayer E: Equivalent eighteen-hour lung preservation with or Euro-Collins solution after prostaglandin E1 infusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 104: 83-9, 1992
 - 31) Moncada S, Flower R, Vane J: Prostaglandins, prostacyclin thromboxane A₂ and Goodman L, Rall T, Nurod F, eds. *Pharmacological basis for therapeutic interventions*. New York, Macmillan, 1985
 - 32) Higgins RS, Letsou GV, Sanchez JA: Improved ultrastructural lung preservation as donor pretreatment in a primate model of heart-lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 105: 965-71, 1993
 - 33) Sundaresan S, Lima O, Date H: Lung preservation with low-potassium dextran flush transplant model. *Ann Thorac Surg* 56: 1129-35, 1993
 - 34) Steen S, Sjoberg T, Massa G: Safe pulmonary preservation for 12 hours with solution. *Ann Thorac Surg*

55: 434-40, 1993

- 35) 박창권, 박원균, 권건영, 김진모, 전석길, 이광숙, 유영선: 일축폐이식실험견에서 이식폐의 기능평가. 대한흉부외과학회지 28: 1096-106, 1995
- 36) Yamazaki F, Yolomise H, Keshavjee SH: The superiority of an extracellular fluid Euro-Collins solution for

pulmonary preservation. Transplantation 49: 690-94, 1990

- 37) Veith FJ, Crane R, Torres M: Effective preservation and trasportation of lung. Cardiovasc Surg 97: 97-105, 1976

