

# 이종이형의 심장이식의 실험적 모델

김 병 일\* · 손 상 태\* · 신 성 호\* · 정 원 상\* · 김 혁\* · 김 영 학\*  
강 정 호\* · 지 행 옥\* · 이 철 범\*\* · 서 정 국\*\*\*.

=Abstract=

## Experimental Model of Cardiac Xenograft, Mouse Heart to Rat.

Byung Il Kim, M.D.\*, Sang Tae Sohn, M.D.\*, Sung Ho Shin, M.D.\*, Won Sang Chung, MD.\*,  
Hyuk Kim, M.D.\*, Young Hak Kim, M.D.\*, Jung Ho Kang, M.D.\*, Heng Ok Jee, MD.\*,  
Chul Burm Lee, M.D.\*\* , Jung Kuk Seo, M.D.\*\*\*

**Background:** The transplantation of organs between phylogenetically disparate or harmonious species has invariably failed due to the occurrence of hyperacute rejection or accelerated acute rejection. But, concordant cardiac xenograft offer us an opportunity to study xenotransplantation in the absence of hyperacute rejection. Current therapeutics for the prolongation of survival of rodent concordant xenotransplantation are not ideal with many regimens having a high mortality rate. Cyclosporine A & Mycophenolate Mofetil are new immunosuppressive agent which has been shown to be effective at prolonging survival of allograft, as purine synthesis inhibitor. **Material and Method:** We used white mongrel rats as recipient and mice as donor, divided 4 groups(n=6), control group(Group 1) has no medication or pretreatment, Group 2 has splenectomy as pretreatment 7~10 days before transplantation, Group 3 has Cyclosporine A treatment group, Group 4 has combined treatment of Cyclosporine A & Mycophenolate Mofetil(RS 61443). We compared survival time. **Result:** We can't find significant difference of survival time between each groups. **Conclusion:** We concluded that rejection of cardiac xenograft was different from rejection of allograft, and new immunosuppressive Agent(Mycophenolate Mofetil, Cyclosporine A) was not effective for prolongation of survival time after cardiac xenograft.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1999;32:1-4)

**Key word :** 1. Transplantation, heterologous  
2. Immunosuppression

---

\*한양대학병원 흉부외과 교실

Department of Thoracic & Cardiovascular Surgery, Hanyang University Hospital

\*\*한양대학 구리병원 흉부외과 교실

Department of Thoracic & Cardiovascular Surgery, Hanyang University Kuri Hospital

\*\*\*한양대학병원 마취과 교실

Department of Anesthesiology, Hanyang University Hospital

†본 연구는 한양대학교 임상교수연구비 및 강화 중앙의원 방한석원장 및 동문기금의 연구비 일부 지원에 의한 것임.

‡본 연구는 1997년 흉부외과학회 추계학술대회에서 발표된 논문임.

논문접수일 : 98년 4월 16일 심사통과일 : 98년 11월 3일

책임저자 : 정원상 (133-070) 서울특별시 성동구 행당동 17번지, 한양대학병원 흉부외과학교실. (Tel) 02-2290-8461, (Fax) 02-2290-8462

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

서 론

계통발생학적으로 조화성과 비조화성인 이종이형의 이식에 관하여 1970년대에 Calne에 의해 분류된 이후 1980년대에 많은 발전이 있었으며, 1990년대 들어 피츠버그대학에서는 임상에 응용하기에 이르렀다. 하지만 아직도 이에 대한 거부반응이 해결되지 않고 있으며, 이를 임상에 적용하기는 아직도 미흡하여 이 거부반응을 해결하고자 많은 대학에서 연구를 계속하고 있다. 기증자의 유용성이 적은 국내외적인 상황에서 심장이식의 수혜자가 많아지고 있는 현시점에서 기증자로서 타종의 동물이 이용될 수 있는지의 기초실험으로써 이종이형의 심장이식을 시행하여 새로운 면역억제제를 혼합 응용하여 거부반응을 극복할 수 있을지에 대해 알아보고자 하였다. 본 한양대학병원 흉부외과학교실에서는 계통발생학적으로 이종이형반응의 자연항체(Xenoreactive Natural Antibody)가 없으며 초급성 거부반응이 아닌 급성거부반응을 보이는 이종이형의 심장이식에서의 거부반응에 대한 연구와 이를 억제하기 위한 면역억제제와의 관계를 알아보고자 기초실험을 시행하였다.

대상 및 방법

실험대상으로는 기증군으로는 다 자란 약 50gm내외의 생쥐(mouse)의 심장을 적출하여 이용하였고 수혜군으로는 150~200gm의 흰쥐(rat)를 이용하였다. 수술방법은 10배율의 현미경하에서 마취후 생쥐의 심장을 적출한 후 4℃의 생리식염수(Normal Saline)에 담아두었다가 수혜군의 마취후 정중복부절개후 하공정맥 및 복부대동맥을 박리한 후 혈관감자로 잡고 절개한 다음, 기증군의 상행대동맥과 수혜군의 복부대동맥을, 기증군의 폐동맥과 수혜군의 하공정맥 사이를 각각 10-0 Nylon으로 단측 문합술(end-to-side Anastomosis)을 시행하는 방법인 modified Ono-Lidsey Method로써 시행하였다. 이 수술에서 적출술에서부터 이식술까지의 허혈시간은 30분에서 1시간이내였고, 관류액 및 보관액은 4℃의 생리식염수를 이용하였으며, 수술성공율은 약 80%였다. 이들 수혜군은 다시 다음 5군으로 나누고 각 군은 각각 10마리씩으로 하였다. 제 1군은 아무런 치료를 하지 않은군(Control Group), 제 2군은 전처치로써 수술 7~10일전에 비장적출술을 시행하였던군(Splenectomy Group), 제 3군은 수술후 처치로 면역억제제인 사이클로스포린(Cyclosporine A, 10mg/Kg, Sandoz)을 투여한군, 제 4군은 수술후 처치로 면역억제제인 사이클로스포린과 Mycophenolate Mofetil(RS 61443, 30mg/Kg oral, Roche)을 투여한군, 제 5군은 술전 전신적인 방사선치료를 한 군으로 나누었으나, 제 5군에서는 마취 후 생존 군이 2마리로 너무

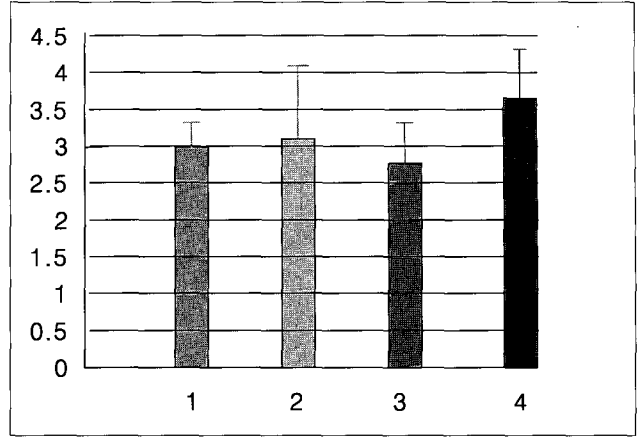


Fig. 1. Comparison of Mean Survival Time ± Mean SD between each Group

Table 1

Group	Mean Survival Time(day)	Mean	SD	P-value
Control	2, 3, 3, 3, 3, 4.	3	0.33	ns
Splenectomy	2, 2, 3, 3, 4, 5.	3.17	1.02	0.76
CsA	2, 2, 3, 3, 3, 4.	2.83	0.56	0.68
CsA + MFM	3, 3, 3, 4, 4, 5.	3.67	0.67	0.14

CsA: Cyclosporine A,  
MFM: Mycophenolate Mofetil(RS61443)

적어 제외하였다. 이들 각 군에서의 이식된 심장의 박동을 촉진하거나, 심전도상으로 확인하여 박동이 있는 경우에 생존기간으로 인정하였으며, 이들 각군의 생존기간을 서로 비교하였다.

결 과

각 군중에서 가장 최단시간의 생존기간을 보인 경우를 제외하고 각각 6마리씩을 정해 이들 각군의 생존기간을 정하였다. 제 1군(Control Group)에서는 2일, 3일, 3일, 3일, 3일, 4일이었고, 제 2군(Splenectomy Group)에서는 2일, 2일, 3일, 3일, 4일, 5일이었으며, 제 3군(CsA Group)은 2일, 2일, 3일, 3일, 3일, 4일이었으며, 제 4군(CsA + MMF Group)은 3일, 3일, 3일, 4일, 4일, 5일이었다(Table 1). 이들 각군의 평균 생존기간과 평균편차는 다음과 같았다. 제 1군은 3±0.33일, 제 2군은 3.17±1.02 일, 제 3군은 2.83±0.56 일, 제 4군은 3.67±0.67일이었다(Fig. 1). 이들 각 군간의 통계처리는 Unpaired student t-test로 하였으며, 각 군간에는 two-sided P value를 구하였다. 제 1군과 제 2군사이의 P value는 0.7650이었고, 제 1군과 제 3군사이는 P=0.68이었으며, 제 1군과 제 4군사이는 P=0.14이었고, 제 3군과 제 4군사이는 P=0.095로써

통계학적인 의의는 없었다. 또한 이들 각 군에서 사후 생쥐의 심장을 적출하여 조직검사를 시행한 바, 심근의 괴사(myocardial necrosis), 간질성의 출혈(interstitial hemorrhage), granulocyte infiltration, endovascular thrombosis or fibrosis 등의 소견으로 각 군과의 차이가 없었다.

## 고 찰

국내외적으로 심장, 폐, 간, 신장 등 장기이식이 보편화되고 있는 가운데 인체의 각 장기이식에 따른 가장 큰 장애는 기증자가 적고 항상 장기이식을 받을 수혜자의 상태가 나빠 기증자가 나타날 때까지 기다리다가 사망하는 레가 증가하고 있는 바, 이에 대한 기증자의 유용성을 증가시키기 위해 많은 노력을 기울이고 있다. 1970년 Calne<sup>1)</sup>에 의해 발표된 이종이형의 이식은 타 동물의 장기를 인체에 이식할 수 있게끔 하므로서 이런 기증장기의 유용성을 극대화하기 위한 노력의 일환으로 여겨진다. 즉 다른 종 다른 형태의 장기를 이식하는 이종이형의 이식(Xenotransplantation)은 현재 동종이형의 이식(Allogeneic Transplantation)이 성공적이라 하더라도 유용한 인체장기가 상대적으로 적어 수혜자의 상태가 심한 부전이 있는 경우에 기증자가 나타날 때까지 기다리다 사망하는 경우가 많아지게 되어, 이를 해결할 수 있는 방안이 될 것이며, 또한 완전히 해결치 못한다 하더라도 기증자가 나타날 때까지의 접촉할 수 있는 방법이 되고자 하였다. 이에 따라 Auchincloss<sup>2)</sup> 등은 이종이형의 이식에 대한 실험의 여러 형태를 보고한 바, 심장이식방법으로 시행한 경우는 Guinea Pig, Hamster, Mouse 등의 심장을 적출하여 Rat Recipient에 이식하는 실험들을 보고하고 있다. 이중, Guinea Pig to Rat 방법은 초급성 거부반응으로 나타난다고 하였다. 그러나 이러한 비조화성의 이종이형의 심장이식의 가장 큰 장벽은 수분 내지 수시간내에 거부반응을 보이는 초급성 거부반응(Hyperacute Rejection, HAR)이며, 아직도 이에 대한 기전은 확실히 이해되고 있지 않으나, 1992년 Luc Gambiez<sup>3)</sup> 등은 Guinea Pig Heart to Rat에 이식하는 방법에서의 초급성 거부반응시에는 극히 비조화성으로 이물(Graft)의 내피세포(endothelial cell)에 첫 번째로 초급성 거부반응의 진행으로 손상받게되며, 이를 면역형광방법(Immunofluorescence Study)으로 증명하였다. 이와 같이 최근 많은 연구에서 병리학적 측면에서 자연 항체(Natural Antibody)의 상호 작용과 보합체(Compliment)가 중요한 작용을 하고 있는 것으로 밝혀졌다. 그러나 아직도 Xenoantigen trigger B lymphocytes의 기전에 대하여는 잘 이해되고 있지 않고 있다고 하였다.

1995년 Lin<sup>4)</sup> 등은 조화성의 이종이형(Concordant Xenograft)의 이식에 대하여서 이종이형시의 반응성 자연항체

(Xenoreactive Natural Antibody)가 classic T-림파구세포억제제(Lymphocyte cell Inhibitor)인 사이클로스포린(Cyclosporine A)이나 FK506을 투여한다 할지라도 이식후 3일이내에 생성된다고 하였다. 이는 T-independent phenomenon을 나타낸다고 하였다. 이에 새로운 면역억제제인Lefunomide를 투여하여 이종이형의 반응성 자연항체의 생성을 억제하므로써 생존기간을 늘릴수 있었다고 보고하였다.

1995년 Sawyer<sup>5)</sup> 등은 이런 조화성의 이종이형의 이식이 초급성 거부반응을 일으키지 않으며 하루에서 일주일 사이의 촉진된 급성거부반응으로 나타나 이종이형의 이식(Xenotransplantation)의 좋은 연구가 되며, CTLA4-Ig이란 새로운 면역억제제를 개발, 투여하여 생존기간을 연장할 수 있었음을 보고하였다. 또한 1995년 Yasutomi<sup>6)</sup> 등은 조화성의 이종이형이식시에 비장(Spleen)이 T-cell independent mechanism에 의해 매개되는 항체생성에 중요한 역할을 하며, 비장의 변연구역(Marginal Zone)의 B 림파구의 IgM 항체(Antibody)를 만든다고 하였다. 1995년 Scheringa<sup>7)</sup> 등은 비장적출술전에 비해 비장적출술후 5일에 Total IgM level이 18.0±4.3%로 감소한다고 하였다. 또한 비장적출술과 Cobra Venom Factor로 치료한 군에서 비조화성의 이종이형이식에 따른 생존기간을 연장할 수 있었다고 하였다.

1994년 Young<sup>8)</sup> 등은 RS 61443(Mycophenolate Mofetil)이 IMPDH의 inhibitor로써 Lymphocytes에서 Purine metabolism을 방해하는 새로운 면역억제제로써 소개되었으며, 현재 임상에서도 이용되고 있다.

1995년 Magee<sup>9)</sup> 등은 Immunoglobulin을 정맥투여하여 치료함으로써 초급성 거부반응을 막을 수 있다고 하였다. 즉 이러한 purified IgG가 조화성이든 비조화성이든간에 이종이형의 이식모델에서보체의 활성화(Compliment Activation)을 조절할 수 있어 초급성거부반응을 방지할 수 있다고 하였다. 이와같이 조화성이든 비조화성이든 이종이형의 이식에 있어 전통적 경로(Classic pathway) 뿐만 아니라 보체의 활성화가 초급성거부반응에 중요한 역할을 함을 알게되었다.

즉, 이종이형시의 반응성 자연항체가 있는 비조화성의 이종이형(Discordant Xenograft)의 이식시에 보이는 초급성 거부반응과는 달리, 이종이형시의 반응성 자연항체가 없는 조화성의 이종이형이식시에는 이런 이종이형의반응성 자연항체가 생기는 수일정도에 나타나는 급성거부반응(Accelerated Acute Rejection)으로 나타나는 바, 본 연구에서도 생쥐(Mouse)의 심장을 적출하여 쥐(Rat)에 이식하는 방법으로 조화성의 이종이형의 이식후에 치료하지 않은 군, 술전 일주일 내지 10일전에 비장적출술을 시행한 군, 사이클로스포린(Cyclosporine A)치료 군, 및 사이클로스포린 및 RS 61443 투여군등으로 나누어 생존기간을 비교 관찰하였다.

## 결 론

조화성의 이종이형의 심장이식술후 각 치료군에 따른 생존율을 비교하여본 바, 이들 각 군간의 생존기간의 통계학적인 차이는 없었으며, 이들 이종이형의 심장이식후의 거부반응은 96년 추계학술대회에서 발표한 동종이형 이식에서 보여준 약 3주간의 생존과 면역억제제의 투여시에는 장기생존을 보여주었으나, 이종이형의 심장이식의 실험적모델에서는 이들 면역억제제의 투여후에도 불구하고 생존기간의 연장을 볼 수 없었으며 이러한 점에서 볼 때 이종이형 이식은 동종이형의이식과는 다르다고 할 수 있겠다.

## 감사의 글

미셋수술연구의 기초가 되게끔 미세수술술기를 가르쳐 주신 샌디에고 미세수술연구소의 Dr. Sun Lee께, 또한 면역억제제인 사이클로스포린과 Mycophenolate Mofetil의 제약사인 한미약품과 Roche사에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

1. Calne RY. *Organ transplantation between widely disparate species*. Transplant Proc 1970;2:550-9.
2. Auchincloss H Jr. *Xenogeneic Transplantation A review*. Transplantation 1988;46:1-20.
3. Gambiez L, Salame E, Chereau C, Calmus Y, Cadoso J, Ayani E, Houssin D and Weill B. *The role of natural IgM in the hyperacute rejection of discordant heart xenografts*. Transplantation 1992;54:577-83.
4. Lin Y, Sobis H, Vandeputte M, Waer M. *Long-term xenograft survival and suppression of xenoantibody formation in the Hamster-to-Rat heart transplant Model using a combination therapy of Leflunomide and Cyclosporine*. Transplant Proc 1994;26:3202.
5. Sawyer GJ, Gustafsson K, Fabre JW. *Vascularized Mouse-to-Rat Heart Grafts: An unexpected difficult Model of Xenotransplantation*. Transplant Proc 1995;27:309.
6. Yasutomi M, Hayashi S, Ohtsuka S, et al. *Elucidation of rejection mechanisms using the splenocyte injection Model in concordant Xenotransplantation*. Transplant Proc 1995; 27:1583-4.
7. Scheringer M, Schraa EO, Bouwman E, et al. *Prolongation of survival of guinea pig heart grafts in Cobra Venom Factor-treated rats by splenectomy*. Transplantation 1995; 60:1350-3.
8. Young CJ, Sollinger HW. RS-61443: *A new Immunosuppressive Agent*. Transplant Proc 1994;26:3144-6.
9. Magee JC, Collins BH, Harland RC, Bollinger RR, Frank MM, Platt JL. *Prevention of Hyperacute Xenograft Rejection by Intravenous Immunoglobulin*. Transplant Proc 1995;27:271.

### =국문초록=

**배경:** 1971년 calne에 의해 계통발생학적으로 조화성과 비조화성으로 분류된 이종이형이식이 발표된 이후, 계통발생학적으로 서로 공통점이 없는 비조화성과 공통점이 있는 조화성의 이종이형이식에서 초급성 거부반응과 촉진된 급성거부반응으로 나누어지나, 이런 조화성의 이종이형의 심장이식시에는 초급성거부반응이 없는 상태로 이종이형의 이식의 연구기회를 제공하게된다. 쥐모델에서의 조화성의 이종이형이식의 생존율을 높이는 현재의 치료법들은 높은 사망을 때문에 많은 연구재에서 이상적이지 못하다. 기존의 사이클로스포린 A(Cyclosporine A) 나 새로운 면역억제제인 푸린 합성억제제인(purine synthesis inhibitor) 마이코페놀레이트 모페틸(Mycophenolate Mofetil, RS61443)은 현재 동종이형이식에는 효과적으로 임상에 이용되고 있다. **대상 및 방법:** 잡종흰쥐를 수혜군으로 다 자란 생쥐를 기증군으로하여 이를 다시 4개군으로 나누어 제 1군(대조군)은 전혀치나 치료약제의 투여가 없었던 군으로, 제 2군은 이식전 7~10일전에 전혀치로써 비장적출술을, 제 3군은 기존의 면역억제제인 사이클로스포린A로 치료한 군으로, 제 4군은 사이클로스포린과 새로운 면역억제제인 마이코페놀레이트 모페틸(RS 61443)을 동시에 투여한 군으로 나누어 각 군간의 술후 생존율을 비교하였다. **결과:** 본문의 표와 그림에서 보여 주는 바와 같이 각군간의 생존율의 차이는 없었다. **결론:** 본 저자들은 결론적으로 조화성의 이종이형의 이식은 동종이형의 이식의 지난 보고와는 거부반응이 서로 다르며, 기존 혹은 새로운 면역억제제인 마이코페놀레이트 모페틸의 투여도 이들 이종이형의 이식후 생존율을 연장하는 데는 효과적이지 못하였다.

중심단어: 1. 이종이식  
2. 면역억제