

이소 이식된 쥐 기관의 면역억제 및 초냉동 보관에 의한 형태학적 변화: 폐색성 모세기관지염의 연구를 위한 동물 실험 모델

이 창 하* · 성 숙 환* · 오 미 혜**

=Abstract=

The Morphologic Changes by Immunosuppression after Heterotopic Transplantation of the Murine Cryopreserved Trachea: An Animal Model for Obliterative Bronchiolitis

Chang-Ha Lee, M.D. *, Sook Whan Sung, M.D. *, Mee-Hye Oh, M.D. **

Background: The replacement of the narrowed long-segment trachea with various prosthetic materials or tissue grafts remains a difficult and unsolved surgical problem. Homologous cryopreserved tracheal transplantation has been considered to treat the irreversibly-damaged organs, such as in the lung or heart transplantation and also to overcome the limited supply of donor organs. We examined the morphological changes and the immunosuppressive effects of the cryopreserved trachea after the heterotopic transplantation in the rats. **Material and Method:** Sixty tracheal segments harvested from 30 donor Wistar rats were heterotopically implanted into the peritoneal cavity of 20 recipient Wistar rats and 40 Sprague Dawley rats. The 60 recipient rats were divided into 6 groups(10 rats/ group). In groups I, II, and III, 30 tracheal segments were implanted immediately after the harvesting and in groups IV, V, and VI, the segments were implanted 28 days after the cryopreservation. Groups I and IV were Wistar syngeneic controls. Groups II and V were Sprague Dawley recipients receiving no immunosuppression and Groups III and VI, were Sprague Dawley recipients receiving immunosuppressive agents. At 28 days all rats were sacrificed and the tracheal segments were evaluated grossly and histologically. **Result:** Immunosuppression of the tracheal segments had a significant influence on the changes of the tracheal lumen and tracheal epithelial cells, irrespective of the cryopreservation of the trachea($p < 0.001$). In groups III and VI receiving immunosuppressive agents, the tracheal lumen was patent and the normal epithelial cells were observed, however in the other groups not receiving the immunosuppressive agents, there were almost luminal obliteration by the proliferation of the fibrous tissues and a loss of the epithelial cells, the findings were similar to those in the case of obliterative bronchiolitis after a lung and a heart-lung transplantation. **Conclusion:** With the appropriate immunosuppressive agents, the lumen and the respiratory epithelium of the transplanted tracheal segment were

*서울대학교 흉부외과

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Seoul National University Hospital

**부천세종병원 병리과

Department of Pathology, Sejong General Hospital

†본 논문은 1994년도 서울대학교병원 일반 연구비(4-94-9) 보조에 의한 것임

논문접수일 : 98년 7월 8일 심사통과일 : 98년 10월 1일

책임저자 : 성숙환, (137-063) 서울특별시 종로구 연건동 28, 서울대학교병원 흉부외과. (Tel) 02-760-2348, (Fax) 02-760-3664

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

well preserved, even after the cryopreservation of the tracheal segment, which shows the possibility of the long-term preservation and homologous transplantation of the trachea. But fibroproliferative obliteration of the tracheal lumen and the loss of the normal respiratory epithelial cells, characteristic findings of obliterative bronchiolitis, were observed in the groups without the immunosuppression. This experiment using the rat trachea may be useful in studying the pathogenesis, treatment, and prevention of obliterative bronchiolitis after a lung and a heart-lung transplantation.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1999;32:215-23)

Key word : 1. Trachea, transplantation
2. Bronchiolitis obliterans
3. Animal model

서 론

선천성 기도 협착이나 후천적인 여러 원인에 의해 초래된 기도 협착의 경우 병변 부위를 절제하고 단단문합이 가능한 경우는 좋은 결과가 보고되고 있으나, 병변이 광범위한 경우 기관을 대치할 수 있는 인공삽입물이나 조직편 등에 대한 대치물이 고려되고 임상에서도 이용되고 있다. 그러나 이러한 시도들에 대해서 아직 만족스러운 결과는 보고되고 있지 않다. 현재까지 이러한 대치물에 대한 여러 다양한 연구에도 불구하고 만족스러운 결과가 없기에 다른 장기와 마찬가지로 기관의 동종이식이 고려되어 동물 실험을 통하여 동종이식의 가능성이 시도되고 있으며, 또한 장기 공급의 제한으로 인하여 초냉동 보관법 등을 이용한 기관의 장기간 보관이 필요하게 되었다. 이에 비교적 실험이 용이한 쥐의 기관 이소 이식술을 통한 이식술후의 기관의 육안적, 조직학적 형태 변화와 아울러 초냉동 보관을 통하여 기관의 장기간 보관시 기관의 상피세포, 연골, 결합조직의 변화에 대한 많은 연구 결과들이 보고되고 있다.

박중호 등¹⁾, 성숙환 등²⁾, Davreux 등³⁾의 보고에서 쥐를 이용한 기관의 이소이식술이 이식후의 기관의 형태학적 변화 연구에 용이하고 유용한 실험 모델이 될 수 있다고 하였으나, Hertz 등⁴⁾은 소동물인 쥐를 이용한 이러한 실험이 폐 이식술후에 종종 관찰되는 폐색성 모세기관지염과 유사한 형태학적 변화가 관찰되어 폐색성 모세기관지염의 발생 원인과 예방, 그리고 치료를 위한 연구에 유용하다고 보고하였다. 이에 쥐의 기관을 이용하여 기관의 동종 이식을 위한 실험 모델의 정립 및 기관 동종 이식편의 초냉동 보관과 면역억제제의 투여에 따른 형태조직학적 변화에 대한 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

기관의 이소이식술을 위하여 쥐를 대상 동물로 정하였으며 몸무게는 300 gm전후의 생후 3주정도로 동종 번식된 Wistar쥐와 Sprague Dawley쥐들을 사용하였다. 60개의 기관절편을 30마리의 Wistar쥐들로부터 취득하여 20마리의 Wistar쥐와 40마리의 Sprague Dawley쥐들의 대망에 감싸서 복부 복강 내에 1개월간 이소 이식시켰다. 이식 대상된 쥐들은 무작위로 분류하였으며 모두 6개의 군으로 나누었다(Table 1). I, II, III군은 기관절편을 취득후 곧바로 이식한 군들이며, IV, V, VI군은 기관 절편을 1개월간 -196℃에서 초냉동 보관시킨 다음 I, II, III군과 마찬가지로 방법으로 이식한 군들이다. I군은 동인자형 대조군으로 이식 대상 동물은 같은 Wistar쥐이었으며 면역억제제는 사용하지 않았다. II, III군은 이인자형 이식군으로 이식 대상 동물은 모두 Sprague Dawley쥐로서 II군은 면역억제제를 사용하지 않았고 III군은 면역억제제를 사용하였다. IV, V, VI군은 1개월간 초냉동 보관된 기관 이식군으로 IV군은 동인자형 대조군으로 Wistar쥐이었으며, I군과 마찬가지로 면역억제제를 사용하지 않았고, V군과 VI군은 이인자형 이식군으로 V군은 면역억제제를 사용하지 않았고 VI군은 면역억제제를 사용하였다. 이식후에는 모두 동일한 환경과 조건하에서 28일간 사육하였다.

1. 공여기관의 획득

기관 공여동물로서 Wistar쥐들은 시술 4시간 전부터 금식시키고 pentobarbital sodium을 65 mg/kg로 복강내 주사하여 마취시킨 후 항혈액응고제인 헤파린 500unit/kg의 용량을 복강내에 주사하였다. 마취후 몸무게를 측정하고 정중흉골절개술을 목부분까지 연장하여 기관을 전장 노출시켜 적출하였다. 적출된 기관은 길이가 약 3 cm이었다. 항생제가 혼합된

Table 1. Grouping

Group	Cryopreservation	Immunosuppression
I	-	-
II	-	-
III	-	+
IV	+	-
V	+	-
VI	+	+

(-: not done, +: done)

0.9% 생리식염수로 기관내부를 세정한 다음 반으로 나뉜 기관절편을 1.5 cm 정도 되게 하여 근위부와 원위부의 구별은 두지 않고 곧바로 이식하든지 초냉동 보관시켰다.

2. 이식 기관편의 장기 냉동보관

냉동보관액은 우태혈청 50%, RPMI 1640배지 40%, 그리고 냉동보호액 (cryoprotectant)인 DMSO(dimethylsulfoxide)가 10% 혼합된 용액을 사용하였다. 절제된 기관편을 10% DMSO가 포함된 냉동보관액에 넣은 후 분당 1°C씩 감온될 수 있도록 4°C냉장고에 1시간, -20°C냉장고에 1시간, 그리고 -70°C deep freezer (Forma Scientifico)에 밤새 보관하여 냉동시켰고, 그 다음날 -196°C의 액체 질소통에 옮겨 1개월간 보관시켰다. 냉동 보관되었던 조직의 해동은 용기 채로 37°C의 생리식염수에 담구어 급속히 녹인 다음, 기도 조각편에 남아 있는 DMSO의 제거를 위해 처음 DMSO가 5%인 배지 용액에, 다음은 DMSO가 없는 배지 용액에 각각 5분간 세척하였다.

3. 기관 이소이식

초냉동 보관의 유무에 따라 각각 이식 대상동물인 Wistar 쥐 10마리와 Sprague Dawley 쥐 20마리를 시술 4시간 전부터 물을 제외하고 금식시켰다. Ketamine HCl 10mg/kg의 용량을 근주하여 마취시키고, 복벽의 털을 깎고 10% Betadine액으로 소독하였다. 복부정중절개로 개복하여 복강내 감염이 없는 것을 확인한 후 대망을 복강 밖으로 꺼내어 채취한 기관절편을 대망에 싸고 봉합사로 고정시켰다. 기관절편이 수축되는 것을 방지하기 위해 소독된 가는 철사로 기관의 양쪽을 고정하여 복강내 이식되는 기관절편이 1.5 cm 길이로 유지 되도록 하였다. 이때 기관절편은 과잉 장력을 받지 않게 하였다. 모든 이식된 쥐들에게 항생제는 사용하지 않았다

4. 면역억제제 투여방법

면역억제제는 Cyclosporin A (Sandoz, USA) 15mg/kg/day 와 methylprednisolone 2mg/kg/day의 용량을 사용하였다. 면역억

제제 투여군 III, VI군은 시술전날부터 시작하여 술후 27일까지 피하 주입하였다.

5. 이소 이식된 기관의 적출

술후 28일째 pentobarbital sodium 65mg/kg을 복강내로 주입하여 마취시킨 다음, 개복하여 복강 안의 감염 여부를 확인하고, 이식된 기관 절편을 대망까지 합쳐 동시에 적출하였다. 적출된 덩어리에서 조심스럽게 대망과 철사를 분리시켜 기관절편만 획득하여 육안적으로 기관 형태 유지정도를 관찰하였다. 정상 생리식염수로 세정하고 포르말린용액에 담구어 기관을 고정시켰다.

6. 기관의 조직학적 검사

조직슬라이드는 기관절편을 연골환 3개 간격으로 횡으로 잘라 3개의 절편으로 나누어 만들었으며, 염색은 기본적으로 Hematoxylin & Eosin 염색과 섬유화 등의 결체조직의 자세한 소견을 관찰하기 위하여 Masson's trichrome 염색을 아울러 같이 시행하였다.

초냉동 보관과 면역억제제에 의한 기관 내강의 유지 및 변화, 상피세포의 변형 여부, 상피하 결체조직의 염증성 변화, 연골의 석회화와 연골주위염(perichondritis), 기관 평활근의 섬유화와 염증의 정도 등의 항목으로 나누었으며, 이 실험의 목적 및 내용을 모르는 병리과의사에 의하여 각 부분의 변화 정도가 관찰되었다. 상피세포의 변형 여부를 제외한 다른 항목은 변화의 정도에 따라 none, minimal(very focal), mild (focal), moderate(patchy or multifocal), severe(diffuse) 등으로 나누었다.

7. 결과의 통계처리 방법

자료의 분석은 SAS통계 프로그램을 이용하여 실시하였다. 각 군간의 병리학적 정도(grade)에 대한 분석은 Ridit 분석법을 이용하였고, p 값이 0.05이하인 경우 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

기관의 이소이식술을 시행 받은 6개 군의 60마리의 쥐중 V군의 1마리와 VI군의 2마리를 제외한 모든 쥐에서 이식술 중이나 수술후 사망한 경우는 없었다. V군과 VI군의 3마리의 쥐는 각각 술후 1일에 2마리 그리고 3일째 1마리가 죽었으며, 부검시 창상의 문제나 복강내의 감염 등의 특이 사항을 관찰할 수 없었다. 57마리의 쥐는 모두 4주간 생존이 이루어졌으며, 복강내의 기관 적출시 복강내 감염이나 복부의 창상 감염의 증거는 없었다. 적출한 57개의 기관 절편의 육

Table 2. Fibroproliferation within the tracheal lumen. In groups III and VI receiving immunosuppressive agents, the tracheal lumen was relatively patent, however in the other groups, there were luminal obliterations by the proliferation of the fibrous tissues.

Grading Group	none	mild	moderate	severe	Total
I	2		1	7	10
II				10	10
III	9		1		10
IV	2			8	10
V	1			8	9
VI	5		2	1	8
Total	19	0	4	34	57

Table 3. Type of epithelium. In groups receiving no immunosuppressive agent, the abnormal changes and a loss of the epithelium were noticed.

Type of epithelium Group	respiratory	cuboidal	squamous	loss of epithelium	Total
I	1	1		8	10
II				10	10
III	7	1		2	10
IV	1	1	1	7	10
V	1			8	9
VI	7	1			8
Total	17	4	1	35	57

안적 소견상 기관의 형태는 비교적 잘 유지되어 있었으나, 초냉동 보관한 IV, V, VI군의 기관 절편은 다소 위축 (shrinkage)되어 있었다.

다음은 57개의 기관 절편의 조직학적 소견이다.

1. 기관 내강, 상피세포 및 상피하 결체조직의 변화

기관 내강 및 상피세포의 변화는 초냉동 보관의 시행 유무와는 차이가 없었으며, 면역억제제의 투여 유무에 따라 현저한 차이가 관찰되었다(Table 2, 3) ($p < 0.01$).

면역억제제를 투여하였던 III군과 VI군을 제외한 나머지 군의 대부분의 기관 내강이 섬유 조직의 증식에 의해 거의 폐쇄되어 있었으며, 이 경우 기관 상피세포 및 상피하 결체 조직의 관찰도 불가능하였다(Fig. 1). 이러한 기관 내강의 폐쇄는 심장-폐 및 폐 이식술후 관찰되는 폐색성 모세기관지염의 병리소견과 유사하였다. 기관 내강의 완전폐쇄는 I군의 경우 10개의 기관 절편중 7개에서 관찰되었으며, II군의 경우 10개의 기관 절편 모두에서, IV군의 경우 10개중 7개, V군의



Fig. 1. Tracheal lumen is totally obliterated by fibrous granulation tissue. (Hematoxylin & Eosin, $\times 40$)

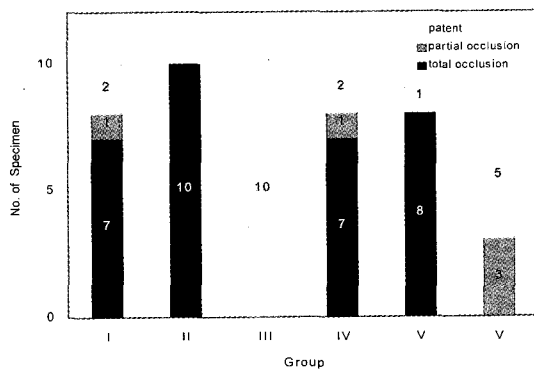


Fig. 2. Luminal patency of transplanted tracheal segment. There were luminal obliterations by the proliferation of the fibrous tissues in most segments of the groups not receiving the immunosuppressive agents,

경우 9개중 8개에서 기관 내강의 완전폐쇄가 관찰되었다 (Fig. 2). III군과 VI군의 기관 내강은 장액 (serous fluid)으로 채워져 있었고, 내강은 잘 유지되었고 (Fig. 3), 또한 이 군의



Fig. 3. Tracheal lumen is patent, but filled with serous fluid. (Hematoxylin & Eosin, $\times 40$)



Fig. 5. Tracheal lumen is totally obliterated by granulation tissue. Residual lumen is noted. (Hematoxylin & Eosin, $\times 40$)

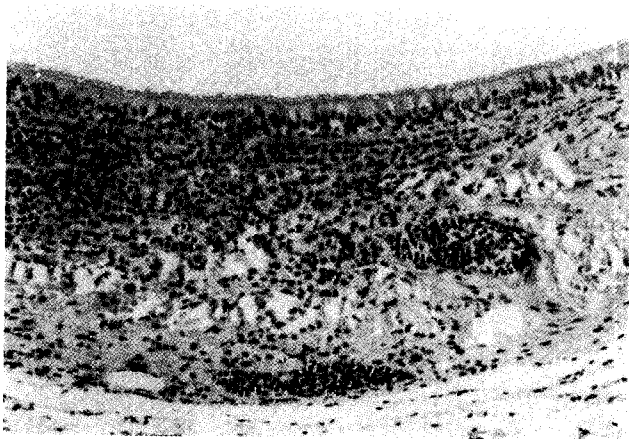


Fig. 4. Some tracheal epithelial cells are well preserved and heavy lymphocytic infiltrations in subepithelial portion. (Hematoxylin & Eosin, $\times 100$)

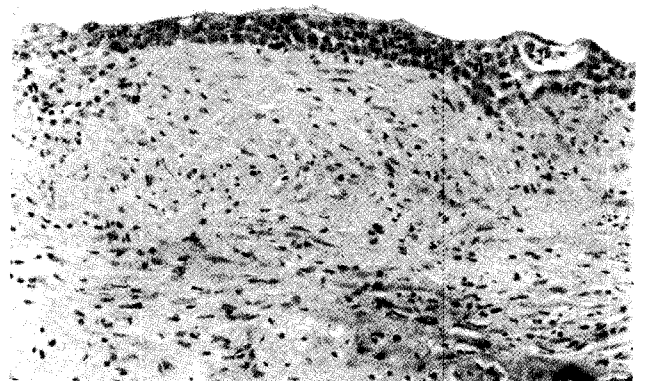


Fig. 6. Some tracheal epithelial cells show squamous metaplasia. (Hematoxylin & Eosin, $\times 40$)

대부분의 기관 절편에서 정상 기관 상피세포를 관찰할 수 있었다(Fig. 4). 그러나 VI군의 경우 8개중 3개의 기관 절편에서 50% 이상의 기관 내강의 협착이 관찰되었다(Fig. 5). 상

피세포를 관찰할 수 있었던 일부 기관 절편에서는 편평상피화생(squamous metaplasia)의 상피세포의 변화도 아울러 관찰할 수 있었다(Fig. 6).

상피하 결체조직의 관찰이 가능하였던 III군과 VI군에서의

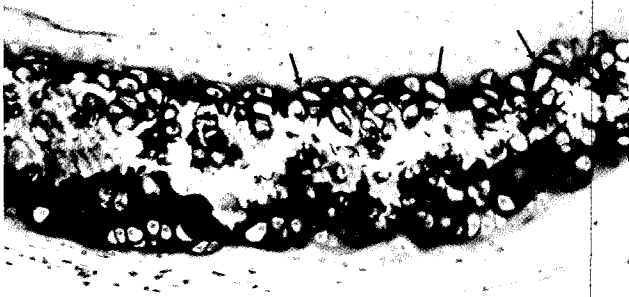


Fig. 7. Tracheal cartilages show diffuse calcification with empty lacunae(arrows). (Hemjatoxylin & Eosin, ×100)

Table 4. Perichondritis. There were no differences in the degree of perichondritis among the groups

Group	Grading					Total
	none	minimal	mild	moderate	severe	
I	1	5	2	1	1	10
II	3	5	2			10
III	5	3	1			9
IV	3	4	2	1		10
V		3	2	1	3	9
VI	1	2	3	2		8
Total	13	22	12	5	4	56

변화는 비슷한 양상으로, 상피하 결체조직의 부종은 대부분의 경우에서 심하지 않았고, 중성구보다는 임파구가 상피하 부위에 국소적 혹은 미만성으로 분포하였다(Fig. 4).

2. 기관 연골의 변화

연골주위염의 발생은 각 군간에 통계적인 차이가 관찰되지 않았으나(Table 4, $p=0.85$), 연골의 석회화 정도는 각 군간에 통계적인 차이가 관찰되었다(Table 5, $p=0.007$). 기관의 초냉동 보관을 하지 않은 군과 초냉동 보관을 하였던 두 군내에서 연골 석회화의 차이는 없었으나(각각 $p=0.70$, $p=0.19$), I군과 IV군, II군과 V군, 그리고 III군과 VI군 사이에는 초냉동 보관한 군에서 기관의 석회화가 더욱 심하였다(각각 $p=0.007$, $p=0.14$, $p=0.048$). III군의 한 표본에서는 연골의 염증성 변화 및 석회화를 관찰할 수 없었다. 또한 석회화와 아울러 열공의 공동화 현상도 관찰되었다(Fig. 7).

Table 5. Calcification of the tracheal cartilage. Severe calcification was observed in the cryopreservation groups compared with those without cryopreservation.

Group	Grading					Total
	none	minimal	mild	moderate	severe	
I			2	5	3	10
II			2	4	4	10
III	1		2	5	1	9
IV				1	9	10
V			1	1	7	9
VI				3	5	8
Total	1	0	7	19	29	56

Table 6. Fibrosis of the tracheal smooth muscle. There was no difference in the degree of fibrosis of the tracheal smooth muscle ($p=0.19$)

Group	Grading				Total
	minimal	mild	moderate	severe	
I		2	6	2	10
II	2	5	3		10
III	3	4	2	1	10
IV		5	5		10
V	1	4	4		9
VI	2	3	3		8
Total	8	23	23	3	57

Table 7. Inflammation of the tracheal smooth muscle. There was no difference in the degree of inflammation ($p=0.54$)

Group	Grading					Total
	none	minimal	mild	moderate	severe	
I			6	4		10
II		4	4	2		10
III	8	2				10
IV		5	3	1	1	10
V		3	3		3	9
VI	1	4	3			8
Total	9	18	19	7	4	57

3. 기관 평활근의 변화

각 군간의 기관 평활근의 섬유화와 염증의 정도는 통계적으로 차이가 없었다 (Table 6, 7, $p=0.196$, $p=0.54$).

고 찰

최근 20, 30전부터 기관 재건수술의 발전으로 대부분의 염증성 혹은 종양성 기관 질환의 절제 및 재건이 가능하게 되었다. 일반적으로 연령, 체형, 국소 해부학적, 혹은 병리학적 병변에 따라 차이는 있지만, 성인의 경우 기관의 절반, 그리고 소아의 경우 3분의 1까지 안전하게 기관 절제 및 재건이 가능하다. 그러나 이보다 더 광범위한 기관 병변의 경우, 인공삽입물을 이용한 재건술이나, 늑골연골이나 공장 등의 자가조직을 이용한 재건술이 연구되고 있으나, 아직 만족스러운 결과는 보고되고 있지 않다⁵⁾. 이에 다른 장기와 마찬가지로 기관의 동종이식이 고려되어 동물 실험을 통하여 동종이식의 가능성이 시도되고 있으며, 또한 장기 확보의 제한으로 인하여 초냉동 보관법 등을 이용한 기관의 장기간 보관이 필요하게 되었다. 기관의 이식술시 유리이식(free graft)으로서 기관의 허혈성 손상을 줄이기 위한 망막고정술(omentopexy)의 중요성은 여러 저자들에 의해서 보고되어 본 실험에서도 기관 절편을 대망으로 덮어 복강내에 이소이식술을 시행하였다^{3,6,7)}.

장기간 보관을 위한 기관의 초냉동 보관법과 관련하여, 개의 기관을 한 달간 초냉동 보관후 동종 동소 이식한 결과 6개월 이상의 생존이 가능하였으며, 기관 조직의 통합성이 잘 유지되어 있었으며, 연골도 생육성이 관찰됨을 보고하였다⁸⁾. 초냉동 보관후 재 이식된 개 기관의 형태학적, 조직학적 특징으로 평활근, 점액을 분비하는 상피세포, 섬모 기능 등은 잘 유지되나, 초냉동 보관의 연골의 조직학적 변화로서 염증 반응 없이 열공(lacunae)내의 연골세포의 핵의 소실이 관찰되어 허혈성 손상의 가능성을 보고하였다⁹⁾. 기관의 초냉동 보관과 관련된 연골의 변화로서 돼지의 기관 절편을 이용한 동물 실험에서 절편의 연골은 일부 흡수되어 섬유성 조직으로 대체되나 기관의 골격을 유지하였고 이러한 섬유성 기관 튜브는 호흡에 있어서 만족스럽고 안정적인 도관으로서의 가능성을 보고하였다¹⁰⁾. 그러나 다른 보고에 의하면 돼지를 이용한 기관의 초냉동 보관후 동소 이식한 기관 절편의 경우 육안적으로 골격이 잘 유지하고 있으나, 조직학적 소견상 점막 및 점막하 조직의 소실, 연골의 공포(vacuole)의 형성 및 핵의 소실과 관련된 연골세포의 괴사가 관찰되었으며, 이러한 병변이 기관연화와 관련되어 불만족스러운 결과가 보고되었다¹¹⁾. 본 연구의 경우 면역억제제를 사용한 군에서는 연골의 석회화, 열공의 공동화 등의 변화가 관찰되었으나 기관 내강은 잘 유지되어 있었다.

기관의 동종 이식을 위한 쥐¹⁻³⁾, 토끼¹²⁾, 개^{8, 9)}, 돼지¹⁰⁾ 등을 이용한 동물 실험이 현재까지 많이 보고되고 있다. 개와 같은 큰 동물에서의 기관 이식술의 결과와는 달리, 쥐 기관

이식편의 동종 이식술과 관련된 다른 동물 실험 모델로서 폐색성 모세기관지염과 유사한 조직학적 결과들이 보고되고 있다^{4,13-17)}. 폐이식술 및 심장-폐 이식술후의 1년 생존율이 70% 그리고 장기 생존율이 30~40%로 보고되고 있으며, 이러한 장기 생존자의 절반 가량이 폐색성 모세기관지염의 발생으로 장기 생존에 제약을 받고 있다¹⁸⁾.

폐색성 모세기관지염의 주요 병리소견은 간엽세포와 내피세포의 증식으로 인하여 조밀한 교원질성 반흔(collagenous scar)에 의한 종말 세기관지 혹은 호흡성 세기관지의 부분적 혹은 완전한 내강 폐색이다¹⁹⁾. 이러한 폐색성 모세기관지염의 병인론으로 만성 거부반응, 바이러스와 같은 감염, 수술에 의한 기관지 혈액 순환의 장애나 비정상 임파배액 등이 고려되고 있으나 아직 충분히 확인되지 않은 상태이다¹³⁾. 이에 Hertz등⁴⁾은 쥐를 이용한 기관 및 주기관지의 이소 이식술 후에 동인자형 동종이식군과는 달리 이인자형 동종이식군에서 폐색성 모세기관지염에서와 유사한 기관 내강의 섬유성 증식으로 내강의 협착 소견, 또한 정상 상피세포의 괴사와 이상 상피세포의 발현 및 기관 절편의 염증성 변화를 보고하여 폐색성 모세기관지염의 병인론, 예방, 치료 등의 연구를 위한 실험 모델의 가능성을 제시하였다. 이후 이러한 실험 모델을 이용하여 cyclosporin 이나 rapamycin 등의 면역억제제 등의 투여로 기관 내강의 섬유성 증식의 감소를 보고하여 폐색성 모세기관지염의 만성 거부반응의 병인론을 지지하는 여러 보고가 있다¹⁵⁻¹⁷⁾. 본 연구에서도 면역억제제를 투여하지 않았던 군에서 Hertz등이 보고한 비슷한 양상의 조직학적 소견이 관찰되어 폐색성 모세기관지염의 연구를 위한 동물 실험 모델의 가능성을 보여주었다.

기관의 동종 이식술시 적절한 면역억제제의 투여가 기관 동종 이식편의 장기적인 생육성에 필요함을 보고하였으나²⁰⁾, 초냉동 보관에 의한 기관 동종 이식편의 면역 반응성의 변화에 대해서 Inutsuka등²¹⁾은 초냉동 보관으로 면역억제제를 투여하지 않아도 동소 이식한 개의 기관 절편의 생존을 늘릴 수 있다고 보고하였다. 또한 Tojo등²²⁾은 개를 이용하여 면역억제제를 투여하지 않은 기관의 동소이식술의 동물 실험에서 신선 동종 이식편(fresh homograft)의 경우 모든 예에서 생존하지 못하였으나, 초냉동 보관 기관 절편의 경우 장기 생존을 유도하였으며, 조직학적으로도 상피세포나 평활근 등이 정상 소견이었으며, 기관 연골도 정상적인 골격을 유지하여 초냉동 보관이 개를 이용한 실험에서 동종 기관 절편의 면역 반응을 감소시킴을 보고하였다. 그러나 쥐를 이용한 본 실험의 경우 초냉동 보관이 동종 이식편에 대한 면역억제효과가 관찰되지 않았으며, 면역억제제를 투여한 군에서 초냉동 보관의 시행여부와는 상관없이 기관 내강이 보다 잘 유지되었으며, 정상 기관 상피세포의 관찰이 용이하였다.

본 연구는 다음의 몇 가지 제한점을 가진다. 우선 실험대상으로 쥐의 선택에 있어서 근교계(inbred strain)가 아니라 비근교계(outbred strain)의 두 가지 종류의 쥐를 선택하였기에 동인자형 이소 이식술후에 관찰되는 면역학적, 조직학적 차이의 규명이 이루어지지 않았다. 또한 본 동물실험의 기관내 섬유조직의 과잉 증식으로 인한 내강의 협착이나 폐색, 기관 상피세포의 소실, 그리고 이상 상피세포의 발현 등이 실제 임상에서의 폐 이식술후 관찰되는 폐색성 모세기관지염의 병리 소견과 얼마나 일치하는지 그리고 이러한 관찰의 임상적 적용에 대해서도 아직 정립된 것이 없는 상태이다. 마지막으로 본 연구의 경우 기관 내강의 유지에도 불구하고 연골의 석회화, 연골 열공의 공동화 등의 변화가 동소 이식한 경우가 아니었기에 이의 임상적 의의는 앞으로 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론

쥐 기관의 초냉동 보관후의 이소 이식술시 적절한 면역억제제의 투여로 기관 내강 및 기관 상피세포가 잘 유지됨을 알 수 있어, 보다 장기간의 기관 보관이 가능할 것으로 생각된다. 그러나 초냉동 보관의 시행 여부와는 상관없이 면역억제제를 투여하지 않은 군에서 폐색성 모세기관지염과 비슷한 양상의 기관 내강의 섬유조직 과잉 증식 및 기관 상피세포의 소실 등이 관찰되었다. 쥐와 같은 소동물에서의 이러한 시도는 폐이식술과 관련된 어려운 문제중의 하나인 폐색성 모세기관지염의 병인, 예방 및 치료를 위한 연구에 있어 좋은 실험 모델이 될 수도 있을 것이다

참고 문헌

1. 박종호, 이정상, 김주현. Cyclosporin A와 methylprednisolone이 이인자형 이식된 쥐 기관의 상피세포 재생에 미치는 영향에 대한 연구. 대흉외지 1994;27:15-23.
2. 성숙환, 김경환, 서정욱 등. 쥐의 초냉동기관 이소 이식 후 형태학적 변화. 대흉외지 1996;29:1182-90.
3. Davreux CJ, Chu NH, Waddell TK, et al. Improved tracheal allograft viability in immunosuppressed rats. Ann Thorac Surg 1993;55:131-4.
4. Hertz MI, Jesurun J, King MB, Savik SK, Murray JJ. Reproduction of the obliterative bronchiolitis lesion after heterotopic transplantation of mouse airways. Am J Pathol 1993; 142: 1945-51.
5. Grillo HC. Tracheal replacement. Ann Thorac Surg 1990; 49:864-5.
6. Hirata T, Yamazaki F, Fukuse T, et al. Omentopexy for revascularization of free tracheal grafts in rats. Thorac Cardiovasc Surg 1992;40:178-81.
7. Mayer E, Crdose PFB, Puskas JD, et al. The effect of basic fibroblast growth factor and omentopexy on revascularization and epithelial regeneration of heterotopic rat tracheal isografts. J Thorac Cardiovasc Surg 1992; 104:180-8.
8. Yokomise H, Inui K, Wada H, et al. Reliable cryopreservation of trachea for one month in a new trahalose solution. J Thorac Cardiovasc Surg 1995;110:382-5.
9. Deschamps C, Trastek VF, Ferguson JL, et al. Cryopreservation of canine trachea: Functional and histological changes. Ann Thorac Surg 1989;47:208-12.
10. Messineo A, Filler RM, Bahoric A, et al. Repair of long tracheal defects with cryopreserved cartilaginous allografts. J Pediatric Surg 1992;27:1131-5.
11. Lenot B, Macchiarini P, Dulmet E. Tracheal allograft replacement. Eur J Cardio-thorac Surg 1993;7:648-52.
12. Olech VM, Kesharjee SH, Chamberlain D, et al. The role of basic fibroblast growth factor in revascularization of rabbit tracheal autografts. Ann Thorac Surg 1991;52:258-64.
13. Al-Dossari GA, Jessurun J, Bolman RM, et al. Pathogenesis of obliterative bronchiolitis: possible roles of platelet-derived growth factor and basic fibroblast growth factor. Transplantation 1995;59:143-5.
14. Huang X, Reichenspurner H, Cao SW, et al. Heterotopic tracheal allograft transplantation: A new model to study the cellular and molecular events causing obliterative airway disease(OAD) in rats. J Heart Lung Transplant 1995;14:S49.
15. Fahrni JA, Berry GJ, Morris RE, et al. Rapamycin inhibits development of obliterative airway disease in a murine heterotopic airway transplant model. Transplantation 1997;63:533-7.
16. King MB, Jessurun J, Savik SK, et al. Cyclosporin reduces development of obliterative bronchiolitis in a murine heterotopic airway model. Transplantation 1997; 63: 528-532.
17. Reichenspurner H, Adams B, Soni V, et al. Obliterative airway disease(OAD) after heterotopic tracheal xenotransplantation in a concordant rodent model: pathogenesis and treatment. Transplant Proc 1996; 28: 729-30.
18. Reichenspurner H, Girgis RE, Robbins RC, et al. Obliterative bronchiolitis after lung and heart-lung transplantation. Ann Thorac Surg 1995;60:1845-53.
19. Yousem S, Berry G, Cagle P, et al. Revision of the 1990 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection: Lung Rejection Study Group. J Heart Lung Transplant 1996;15:1-15.
20. Nakanishi R, Yasumoto K, Shirakusa T. Short-course immunosuppression after tracheal allotransplantation in dogs. J Thorac Cardiovasc Surg 1995;109:910-7.
21. Inutsuka K, Kawahara K, Takachi T, et al. Reconstruction of trachea and carina with immediate or cryopreserved allografts in dogs. Ann Thorac Surg 1996;62:1480-4.
22. Tojo T, Niwaya K, Sawabata N, et al. Tracheal allogenic

immunoresponse is reduced by cryopreservation: Canine experiment. Transplant Proc 1996;28:1814-5.

=국문초록=

배경: 여러 가지 다양한 원인에 의해 기도 협착이 초래된 경우, 단단문합이 가능한 병변을 제외하고는, 기관을 대체할 수 있는 여러 가지 대용물이 고려되고 임상에서도 이용되고 있으나 아직 만족스러운 결과는 보고되고 있지 않다. 이러한 이유로 비가역적 손상을 받은 다른 장기와 마찬가지로 기관의 이식술이 고려되고 공여 기관의 자원의 제한으로 인하여 장기간 기관의 보관이 필요하게 되었다. 이에 쥐를 이용한 기관의 이소이식술을 통하여 기관 이식의 임상 적용 가능성 및 초냉동 보관을 통한 장기간 보관의 실험 모델의 정립 및 형태학적 측면에 대한 연구를 시행하였다. **대상 및 방법:** 30마리의 Wistar쥐에서 60개의 기관 절편을 취득하여 20마리의 Wistar쥐와 40마리의 Sprague Dawley쥐들의 복부 복강내에 이소 이식하였다. 이식 동물 대상에 따라 실험군은 모두 6개의 군으로 나누었다. I, II, III군은 기관 절편을 취득후 곧바로 이식한 군들이며, IV, V, VI군은 기관 절편을 1개월간 -196℃에서 초냉동 보관시킨 다음 이식한 군들이다. I군과 IV군은 동인자형 대조군으로 이식 대상 쥐는 공여 쥐와 같은 Wistar쥐였으며 면역억제제를 투여하지 않았다. II군과 V군은 이인자형 이식군으로 모두 Sprague-Dawley쥐로서 면역억제제를 투여하지 않았고, III군과 VI군도 마찬가지로 이인자형 이식군이었으나 면역억제제를 투여하였다. 모든 쥐는 이식술후 28일째 절명시키고 이소 이식된 기관 절편을 분리하여 조직학적 검사를 시행하였다. **결과:** 기관 내강 및 상피 세포의 변화는 초냉동 보관의 시행 유무와는 차이가 없었으며, 면역억제제의 투여 유무에 따라 현저한 차이가 관찰되었다($p < 0.01$). 면역억제제를 투여하였던 III군과 VI군의 경우 기관 내강이 잘 유지되어 있었고 정상 상피 세포의 관찰이 가능하였으나, 나머지 군의 대부분의 기관절편에서 기관 내강이 섬유 조직의 증식에 의해 거의 폐쇄되어 있었고, 상피세포의 소실 및 상피하 조직의 관찰이 힘들었다. 이러한 기관 내강의 섬유 조직의 증식은 폐이식술과 관련된 폐색성 모세기관지염의 병리 소견과 유사하였다. **결론:** 쥐 기관의 초냉동 보관후의 이소 이식술시 적절한 면역억제제의 투여로 기관 내강 및 기관 상피세포가 잘 유지됨을 알 수 있어, 보다 장기간의 기관 보관이 가능할 것으로 생각된다. 그러나 초냉동 보관의 시행 여부와는 상관없이 면역억제제를 투여하지 않은 군에서 폐색성 모세기관지염과 비슷한 양상의 기관 내강의 섬유조직 과잉 증식 및 기관 상피세포의 소실 등이 관찰되었다. 쥐와 같은 소동물에서의 이러한 시도는 폐이식술과 관련된 어려운 문제중의 하나인 폐색성 모세기관지염의 병인, 예방 및 치료를 위한 연구에 있어 좋은 실험 모델이 될 수도 있을 것이다

- 중심단어:**
1. 기관 이식술
 2. 폐색성 모세기관지염
 3. 동물실험