

관류, 보존 및 재관류 과정이 이식된 개의 폐조직에 미치는 영향

계명대학교 의과대학 병리학교실 및 흉부외과학교실¹

임영근, 박창권¹, 권건영

= Abstract =

Effects of Flushing, Preservation and Reperfusion in the Canine Transplanted Lung Tissue

Young Keun Lim, M.D., Chang Kwon Park, M.D.¹, Kun Young Kwon, M.D.

*Departments of Pathology, and Thoracic and Cardiovascular Surgery¹,
Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea*

Background : Due to the paucity of suitable donor organs for lung allotransplantation, a number of techniques have been developed to improve the lung preservation. Ultrastructural studies of the morphologic changes of the flushing, preservation and reperfusion injury in donor lungs have rarely been reported.

Methods : Adult dogs (n=46) were matched as donors and recipients for the single lung transplantation. The donor lungs were preserved after flushing with preservation solution and transplanted after 20-hours of preservation at 10°C. Ultrastructural features of the lung were examined after flushing, preservation and 2 hours after lung transplantation (reperfusion) respectively.

Results : Electron microscopy after flushing showed focal alveolar collapse and mild swelling of type I epithelial cells. After preservation both type I epithelial cells and endothelial cells were swollen and destroyed focally. The endothelial cells showed protrusion of tactile-like structures into the lumina, blebs or vacuoles of the cytoplasm. After reperfusion the lung tissue showed fibrin material in the alveoli, prominent type I epithelial cell swelling with fragmented cytoplasmic debris and marked endothelial cell swelling with vacuoles or tactile-like projections. The alveolar macrophages showed active phagocytosis. Scanning electron microscopic examination of the pulmonary parenchyma showed focally alveolar collapse and focal consolidation after the preservation and more prominent changes after the reperfusion procedure. The lungs preserved with low potassium dextran glucose solution, with additional prostaglandin E₁(PGE₁) and verapamil(VP) showed relatively well preserved ultrastructures compared with those which were preserved with modified Euro-Collins or University of Wisconsin

sin, and with additional PGE₁ and/or VP.

Conclusion : The ultrastructural changes associated with flushing were mild in severity, the donor lungs were injured during the preservation, and further damage was occurred during the reperfusion. The reperfusion injury resulted in prominent pulmonary parenchymal alterations with a pattern of acute lung injury. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 1999, 46 : 512-522)

Key words : Canine lung transplantation, Preservation, Reperfusion, Ultrastructure.

서 론

폐이식은 폐기종, 본태성 폐고혈압, 낭성섬유증과 만성 간질성섬유증 등 난치성 질환을 가진 말기 환자의 마지막 치료 방법으로 시도되고 있다¹⁾. 최근 폐이식에 관한 많은 임상 증례들이 문헌에 보고되고 있으며 폐이식 성공률을 높이기 위해서 기초 및 임상연구를 활발히 진행하여 왔다²⁻⁵⁾.

Cooley등¹⁾에 의해 최초로 인체에 심폐이식을 실시한 후 심폐이식 수가 증가하여 국제 심폐이식학회(International Society for Heart and Lung Transplantation)의 통계에 의하면 1995년도를 기준으로 심폐이식 수가 1,708례, 일측 폐이식이 2,465례였으며 양측 폐이식은 1344례가 보고되었다²⁾. 국내에서는 1996년 특발성 폐섬유증을 가진 환자에서 일측 폐이식을 실시한 예가 처음으로 보고된 후 여러 의료기관에서는 폐이식 성공을 목표로 임상 및 실험 동물에서 폐이식을 실시하고 있으며, 동물 실험을 통해서 폐이식 과정에서 초래되는 여러 문제점을 파악하는 연구를 많이 실시하고 있다⁶⁻⁸⁾.

폐이식 전 후 발생할 수 있는 폐조직 손상으로는 이식 전 공여폐의 관류(flushing) 및 보존(preservation)과정에서 초래되는 허혈성 손상과 이식 직후 재관류(reperfusion)과정에서 발생하는 조직 손상 및 폐이식후 일어나는 급성 및 만성 거부반응과 폐감염 등을 들 수 있다⁹⁻¹¹⁾. 특히 공여폐를 얻은 후 폐이식 때까지 공여폐를 잘 보존하는 것이 폐이식 전 후의 성공률을 높이는데 중요하다. 따라서 공여폐에서 발생할 수 있는 허혈 상태 및 조직 손상을 최대한 줄이면서

신선하게 공여폐를 보존하는 방법을 강구하고 각종 폐보존액 개발과 보존방법 개선에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다¹¹⁻¹⁴⁾. 최근 폐보존 용액으로 세포내액성 보존액인 University of Wisconsin(UW) 용액 및 Euro-Collins용액과 함께 세포외액성 용액인 low potassium dextran glucose(LPDG) 용액을 사용하여 공여폐의 보존 상태를 잘 유지하려는 연구들이 보고되고 있다^{12,15)}. 문헌에 보고된 폐이식에 관련된 연구는 폐이식술에 관한 임상 연구와 폐보존액 개발에 따른 연구가 주류를 이루고 있으며, 폐이식 전 후 과정에서 폐조직에 초래되는 변화에 관한 초미형태학적 연구 보고는 많지 않은 편이다.

본 연구에서는 공여폐에 폐관류, 보존 및 폐이식 직후 재관류 후 초래되는 폐조직 손상을 광학 및 전자현미경적으로 검색하여, 폐이식 전후 각 과정에서 야기되는 형태학적 변화를 알아보기 위하여 본 연구를 실시하였다.

대상 및 방법

1. 연구재료

실험동물로는 암수 구분 없이 체중 20-25kg 되는 한국산 성견 46마리를 대상으로 공여견과 수용견으로 2마리씩 나누어 23회에 걸쳐 폐이식을 실시하였다. 공여폐에는 관류와 보존액으로 modified Euro-Collins(MEC)(n=9), LPDG(n=13) 및 UW(n=1)용액을 각각 사용하였고 첨가제로 prostaglandin E₁(PGE₁)과 verapamil(VP)을 투여하였다.

2. 연구방법

실험견을 공여견과 수용견으로 나누고, 공여견에게 halothane으로 전신마취를 한 후 폐동맥을 통해 헤파린(500U/kg)을 주입한 후 카테타를 삽입하여 40cm 높이에서 4℃ LPDG, MEC 또는 UW 용액으로 폐관류를 실시하였다. 첨가제 투여 군에서는 폐관류를 시행하기 전에 체중 1 kg당 20 µg의 PGE₁을 폐동맥 내로 60초 동안 서서히 주입하였으며, VP는 20mMol/L를 폐동맥 내로 주입하였다. 심폐 블록을 적출하여 폐관류액과 동일한 용액을 담은 3점의 비닐주머니에 넣은 다음 냉장고에 보관하였다. 공여폐의 총 허혈 시간은 공여견에 혈류 차단 후부터 관류, 냉장 보존 및 이식 후 2시간 경과 한 후 혈류 재개통(재관류)까지 시간으로 정하였다. 공여폐의 허혈시간은 예비실험을 거쳐서 적절하다고 판단된 약 20시간으로 하였다. 수용견의 좌측 전폐를 절제한 후 공여견의 심폐 블록에서 좌측 폐를 박리하여 좌폐이식을 실시하였고 2시간이 경과한 후 재관류를 하였다. 형태학적 검색을 위하여 대조군으로는 수용견의 좌측 폐를 선택하였다. 실험군으로는 관류과정 직후와 보존과정 후 우측 공여폐를 선택하였고, 재관류 시작 후 2시간째에 좌측 공여폐를 선택하였다. 실험군의 각 과정에서 선택한 폐의 전엽을 포함하는 가장 넓은 면으로 시상 절단(sagittal section)을 하여, 투과 및 주사전자현미경 관찰을 위한 폐조직을 채취하고, 나머지는 모두 광학현미경용 조직 재료로 사용하였다.

1) 광학현미경 관찰 :

적출한 폐장조직을 10% 중성 포르말린에 고정하고 계열 에탄올로 탈수한 후 파라핀 침투와 파라핀 포매 과정을 거쳐서 4 µm의 박절편을 만들어 H&E, Masson trichrome과 Verhoeff elastic염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다.

2) 투과전자현미경 관찰 :

투과전자현미경용으로 제공된 폐장조직을 1 mm³ 크

기로 세절하여 폐포내 공기를 탈기방법으로 제거하였다. 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)으로 1-4℃에서 2시간 전고정을 하고 0.1 M 인산염 완충용액으로 세척한 후 1% OsO₄ 용액에서 2시간 후고정을 실시하고 같은 완충용액으로 세척한 후 계열에탄올로 탈수를 하였다. Propylene oxide로 치환한 후, Luft방법¹⁶⁾에 의한 epon 혼합물로 포매 하여 37℃에 12시간, 45℃에 12시간, 60℃에 48시간 동안 방치하여 열중합을 시켰다. 포매된 조직을 1 µm 두께로 박절하여 toluidine blue 단염색을하고 광학현미경상에서 관찰 부위를 결정하였다. 초박절은 Sorvall MT 5000형 초박절기에서 diamond 칼을 부착하여 40-60nm의 회백색을 나타내는 초박절편을 얻어서 grid에 부착하여 Watson¹⁷⁾ 및 Reynolds¹⁸⁾ 방법에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 전자염색을 실시하여 Hitachi H-600형 투과전자현미경으로 관찰하였다.

3) 주사전자현미경 관찰 :

폐실질 조직의 관찰을 위한 주사전자현미경적 시료제작 과정으로 폐조직을 1×1×4mm정도 크기로 세절한 후 0.5% glutaraldehyde와 0.5% paraformaldehyde 고정액에 넣어 1일간 더 고정한 후 1% OsO₄ 용액으로 2시간동안 후고정을 하고 0.1 M 인산염 완충용액으로 수세하였다. 25% dimethyl sulfoxide(DMSO)와, 50% DMSO에 30분씩 담긴 다음 액체질소로 동결하고 조직을 할단(cracking)하였다. 할단한 조직을 50% DMSO에 녹여 수세한 후 2% 탄닌산에 12시간 침투시킨 다음 완충 용액으로 세척하였다. 폐동맥 내막의 표면 관찰을 위한 시료제작 방법과 동일한 과정을 거쳐서 Hitachi S-520형 주사전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

1. 광학현미경 소견

관류과정후 채취한 폐조직은 저배율에서 뚜렷한 변화

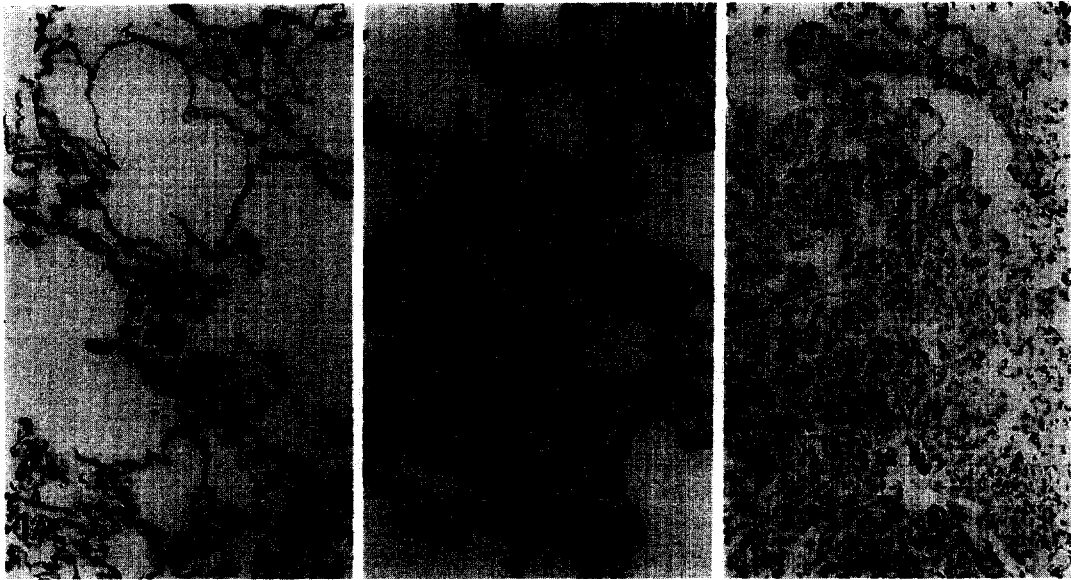


Fig. 1. A. Light micrograph following flushing perfusion in donor lung. The lung parenchyma shows focal alveolar collapse and mild edematous interstitial thickening.
B. Donor lung tissue following preservation shows multiple patchy areas of alveolar collapse, consolidation and edematous interstitial thickening.
C. Donor lung tissue following reperfusion shows diffuse alveolar collapse and consolidation.

를 관찰할 수 없었으며 고배율에서 국소적인 폐포허탈 (collapse)과 경한 간질 내 부종이 보였다. 보존 과정 후 폐조직에서는 다발성의 폐포허탈을 보였으며 고배율에서 폐포벽의 부종을 보였고 국소적으로 폐포상피 세포의 손상을 동반하였다(Fig. 1A). 재관류를 한 후에는 미만성으로 폐실질의 허탈과 경화를 보였으며 고배율에서 간질의 부종과 비후가 관찰되었고 폐포 상피 세포의 미만성의 급성 손상 소견을 볼 수 있었다(Fig. 1B). 보존 및 재관류 과정 후에는 실험군 개개에 따라서 정도의 차이는 있었으나 실험군 전체에 걸쳐서 폐손상이 초래됨을 관찰할 수 있었으며, 재관류 과정 후 폐조직 손상이 보존 과정 후보다 심한 편이었다.

2. 루파전자현미경 소견

관류를 한 후 폐조직에서는 국소적으로 폐포 허탈이

보이면서 폐포상피세포의 종창과 간질의 경한 부종을 보였다. 폐포모세혈관들은 형태가 불규칙하였으나 혈관 내피세포의 종창은 뚜렷하지 않았고 폐쇄막도 잘 유지되었다(Fig. 2). 보존 과정 후에는 관류과정 후의 초미형태학적 변화보다 더욱 뚜렷한 변화를 보였다. 폐포벽이 비후 되면서 폐포구조의 형태가 불규칙해지고 다발성으로 폐포 허탈을 보이면서 폐포상피세포와 모세혈관 내피세포의 손상을 동반하였다. I 형 폐포 상피세포에서 종창 및 파괴를 보이면서 기저막으로부터 박리 되었고 때때로 세포 잔해물이 폐포내에 유리 되었다(Fig. 3). 폐포내에는 대식세포의 수가 증가하여 유리된 세포 잔해물을 탐식하였다. 폐포모세혈관은 전반적으로 배열이 불규칙하고 내피세포에는 종창, 수포형성, 파괴 및 촉각모양(tactile-like)의 구조를 보이면서 혈관 내로 돌출하였다. 재관류 후 채취한 폐조직에서는 폐포내에 섬유소를 포함한 세포 잔해물이 다

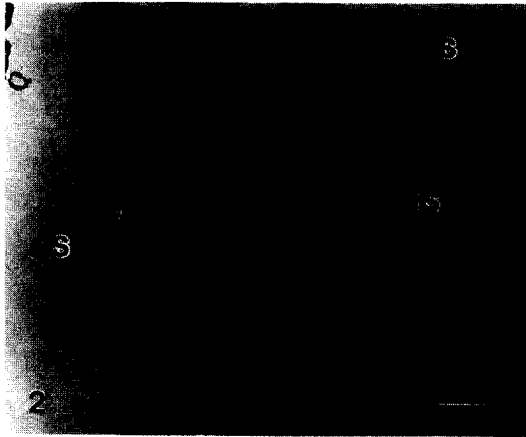


Fig. 2. Transmission electron micrograph after flushing in the donor lung shows irregularly arranged alveolar architecture and mild interstitial edema (large arrows). The alveolar capillary endothelium shows well preserved intercellular tight junction (small arrow). Uranyl acetate and lead citrate, $\times 13,600$.

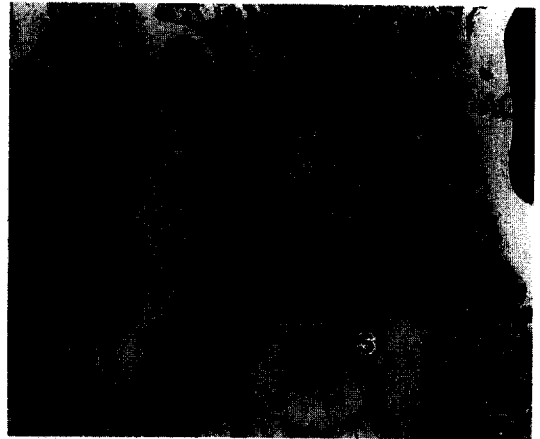


Fig. 4. Transmission electron micrograph after reperfusion shows prominent endothelial cell and type I cell destruction with many cellular debris (arrows) in the alveolar spaces. Uranyl acetate and lead citrate, $\times 13,600$.

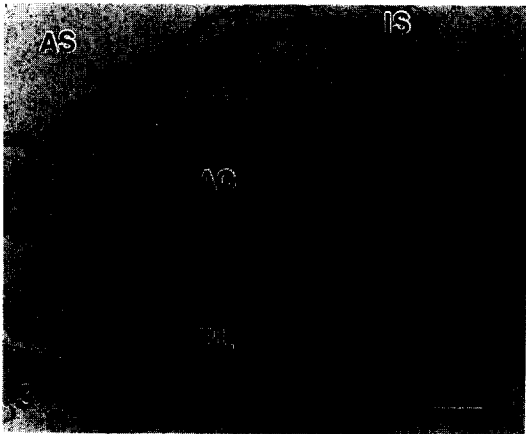


Fig. 3. Transmission electron micrograph after preservation shows markedly changed alveolar capillary endothelial cell with bleb (asterisk) and tactile-like projection into the lumina (arrows). Uranyl acetate and lead citrate, $\times 13,600$.

수 보였고 폐포상피세포의 심한 파괴를 동반하였다. II형 폐포상피세포 내에는 다충판체의 수가 감소하고 내용물은 비어 있었다. 폐포모세혈관 내피세포에서는 현저한 종창, 수포형성 및 축각 모양 돌기를 관찰 할 수 있었다(Fig. 4). 폐간질 은 부종성 비후를 보였고, 폐포내에는 폐포대식세포가 흔히 유리된 세포잔해물을 탐식하였다. 재관류후 초래된 폐조직의 형태학적 변화는 보존과정후 나타난 조직 손상에 비하여 더욱 뚜렷하였다.

3. 보존액과 첨가제의 선택에 따른 폐손상의 형태학적 평가

LPDG용액을 단독으로 관류 및 보존용액으로 사용한 군에서는 산발적으로 폐포허탈, 폐포상피세포의 종창, 파괴, 불규칙한 기저막 배열 및 비후가 뚜렷하였다. 그리고 폐포모세혈관에는 배열이 불규칙하고 수포형성과 축각모양의 돌기를 보였고, 간질의 비후 및 폐포강내의 대식세포의 탐식 소견을 볼 수 있었다.



Fig. 5. Transmission electron micrograph after preservation using LPDG solution with additional administration of VP and PGE₁. The alveolar epithelial cells show mild to moderate swelling, bleb or vacuolization (short arrow) and small amount of desquamated cell debris(long arrow) into the alveolar lumina. The endothelial cell of the alveolar capillary shows moderate degree of tactile-like projection into the lumen (asterisk). $\times 13,600$.

LPDG용액에 첨가제인 VP과 PGE₁을 함께 사용하였을 때는 폐조직에 나타난 폐포 상피세포, 폐포 모세혈관 내피세포 및 간질 내의 초미형태학적 변화가 다소 경미하였다(Fig. 5). MEC용액에 첨가제인 VP만을 함께 사용한 군에서는 폐조직의 형태학적 변화가 LPDG용액만을 사용한 군에 비하여 경미하였으나 MEC용액에 VP와 PGE₁을 모두 사용한 군에서는 폐포상피세포와 폐포모세혈관 내피세포의 변화가 뚜렷하였으며 LPDG용액에 VP 및 PGE₁을 사용한 군에 비하여 초미형태학적 변화가 더욱 심하였다(Fig. 6). UW용액에 PGE₁을 함께 사용한 군에서는 중등도의 폐조직 손상을 보였다.

4. 주사전자현미경 소견

관류과정 후에는 폐실질의 폐포가 국소적으로 허탈을

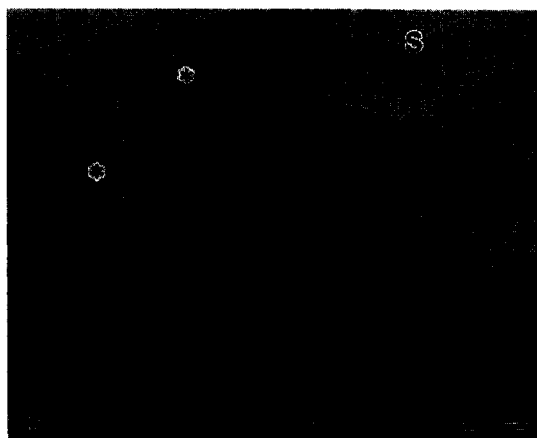


Fig. 6. Transmission electron micrograph after preservation using MEC solution with additional administration of VP and PGE₁. The alveolar epithelial cells show marked swelling, destruction or vacuolization (asterisks), and some cellular debris (arrow) The alveolar capillary endothelial cell shows tactile-like projection into the lumen Uranyl acetate and lead citrate, $\times 20,400$.

보였으며 대체로 정상적인 폐포 배열과 형태를 유지하였다. 보존과정 후에는 저배율에서 다발성으로 폐포허탈과 폐포벽 및 폐간질 부위에 비후를 볼 수 있었으며 부분적으로 폐포내에 파괴된 물질을 관찰할 수 있었다(Fig. 7). 재관류후에는 미만성으로 폐실질 경화를 볼 수 있었다. 고배율에서 폐포강 내에 폐포세포의 파괴물로 채워져 있으며, 폐포벽에 심한 비후로 폐포 구조가 흐트러진 채 불분명한 형태를 보였다(Fig. 8).

고 찰

최근 폐이식에 관한 주요 관심 분야로는 공여폐의 선택, 보존 및 이식술 후 합병증 감소에 대한 것으로 이 분야에 대한 많은 연구가 진행되고 있다^{13-15, 19}. 그러나 급성 및 만성 거부 반응에 대한 적절한 처치와 공여폐 보존 시간 연장, 보존 방법 개선 및 보존액 개발 등 해결해야 할 많은 과제가 남아 있다²⁰. 폐이식

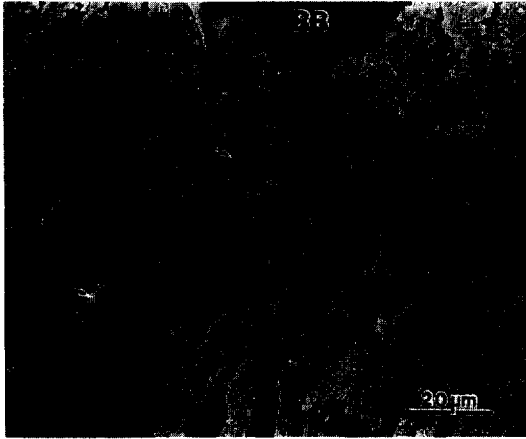


Fig. 7. Scanning electron micrograph after pre-preservation shows patchy areas of alveolar wall collapse with some destroyed materials in the air spaces (arrows). $\times 1,100$.

에 있어서 공여폐는 타 이식 장기에 비해서 그 보존 효과가 그다지 높지 못한 편이다. 이는 폐장이 이중적인 혈류 공급체계를 가지며, 기도에 의해 대기와 직접 연결되어 있는 구조적인 특성과 폐포-모세혈관계가 허혈성 손상에 매우 민감하기 때문이다²¹⁾. 공여폐의 보존이 적절하지 못할 경우에는 허혈성 손상에 의해 폐포모세혈관의 투과성이 증가되어 폐부종이 잘 발생하며, 이식 직후 급성 폐기능부전을 초래할 수 있다²¹⁾. 최근에는 공여폐가 주어질 경우 이식 때까지 공여폐를 최적의 조건하에서 보존함으로써 허혈로 인한 조직 손상을 최소화하려는 데에 많은 연구가 이루어지고 있다^{15, 19, 20)}. 공여폐는 관류 및 보존 과정을 거치면서 허혈성 손상을 받으며, 이식 후 혈관 재관류 때에는 호중구의 침윤과 함께 산소유리기(oxygen free radical)가 생성되어 조직에 더욱 심한 손상을 초래하는 것으로 보고되어 있다²²⁾.

혈관 내피세포의 변화는 관류 및 보존 과정에서 초래되며, 혈류 차단과 저온으로 혈관이 수축되어 허혈 상태가 되어 내피세포의 손상을 초래한다²³⁾. Pickford등²⁴⁾은 흰쥐 폐를 48시간 동안 냉장 보존하여 혈관 내피세포의 팽창, 소실, 수포형성 및 기저막으로부터 내피세포 탈락 등 내피세포의 손상이 뚜렷함을 보



Fig. 8. Scanning electron micrograph after reperfusion shows area of pulmonary parenchymal consolidation with markedly alveolar wall collapse and cellular debris (asterish) filling in the alveolar space. $\times 2,300$.

고하였다. 간질 내 부종 소견은 폐보존액에 의해 초래되든지 혈관 내피세포의 투과성 증가로 유발된다¹⁰⁾. 본 실험에서는 20시간 보존 과정 후 채취한 폐조직에서 폐포모세혈관의 형태가 불규칙하면서 내피세포의 종창, 수포형성, 파괴 및 축삭모양 돌기 형성을 볼 수 있었다. 폐포상피에서는 I 형 폐포상피세포의 종창과 파괴를 볼 수 있었고 가끔 기저막으로부터 박리되면서 파괴된 I 형 폐포 상피세포를 포함한 세포잔해물들이 폐포 내로 유리되어 대식세포가 탐식하는 소견을 볼 수 있었다. 폐포강 및 간질 내에 염증세포의 침윤은 보이지 않았으며 내피세포 및 폐포 상피세포의 조직 손상은 모두 보존 기간중 초래된 허혈성 손상으로 판단되었다. 혈관 내피세포 손상은 Pickford등²⁴⁾의 성적과 비교하여 비슷한 결과를 보였으나, I 형 폐포 상피세포에서는 본 실험에서 보다 뚜렷하게 국소적인 허혈성 손상을 보여 주었다.

폐보존의 효과를 높이기 위하여 폐보존 방법을 개선하고 폐보존액을 개발하며, 다양한 첨가제를 함께 사용하고 있다^{19, 21)}. 과거에는 폐보존액으로 저온 crystalloid 용액과 냉혈액을 포함한 보존액을 사용하였고,

최근에는 Euro-Collins 용액, Belzer용액, UW용액, hypertonic citrate 용액, LPDG용액을 보존액으로 사용하고 있다^{19, 25, 26)}. 공여폐의 보존 방법으로는 혈액으로 관류를 계속시키면서 공여폐를 냉각시켜서 운반하는 방법을 시도하였으며²¹⁾, 저온 crystalloid 관류 용액을 사용하여 6시간 동안 심폐관류를 실시하기도 하며²⁷⁾, 폐혈관의 확장제인 PGE₁을 사용하여 저온 관류과정에서 야기되는 혈관수축 반응을 억제함으로써 허혈에 의한 조직 손상을 줄일 수 있었다¹⁹⁾. 본 실험에서 MEC에 첨가제인 VP와 PGE₁을 함께 사용한 군에서는 폐조직의 폐포 상피세포 및 모세혈관 내피세포의 초미형태학적 변화가 현저하였으며, LPDG용액에 이들 첨가제를 같이 사용한 군에서는 그 변화가 경미함을 볼 수 있었다. 이것은 첨가제를 함께 사용한 LPDG용액이 MEC용액 보다 조직손상을 보다 적게 초래한다는 Yamazaki 등²⁸⁾의 보고와 일치하는 성적이나, LPDG용액을 임상적 폐이식에 보존 용액으로 널리 사용하기 위해서는 향후 더욱 많은 수의 동물을 대상으로 한 실험을 통하여 공여폐의 보존 효과가 우수함을 증명해야 될 것으로 생각된다.

투과 및 주사 전자현미경적 관찰을 통하여 폐관류 및 보존 과정에서 초래되는 허혈성 손상을 형태학적으로 보다 용이하게 평가할 수 있다^{10, 15, 29)}. 투과전자현미경적 관찰로 작은 혈관 또는 폐포 모세혈관 내피세포의 종창, 수포, 축삭모양 돌기 형성 등과 폐포상피세포의 초미형태학적변화의 정도를 평가할 수 있으며, 주사전자현미경으로는 폐포 구조 및 상피세포의 변화와 폐동맥 내막 변화를 보다 용이하게 관찰할 수 있다¹⁰⁾. 최근 보존액 개발에 관한 연구가 활발하면서 보존액에 따른 폐보존 효과를 정확히 평가하기 위해 전자현미경을 이용한 보고가 증가하고 있다^{14, 15, 29)}. 본 연구에서도 투과전자현미경을 통해 혈관 내피세포의 종창과 수포형성 그리고 축삭 모양 돌기가 혈관 내로 돌출하는 소견을 관찰 할 수 있었다. 폐포벽은 미만성으로 종창과 비후를 보였으며 폐포강은 매우 좁아지고 일부에서는 파괴된 세포잔해물과 대식세포를 포함한 삼출성 물질이 폐포강을 폐쇄하고 있었다. 폐포 상피

세포는 흔히 기저막에서 박리 되거나 단절되어 있으며, 폐포내에는 대식세포가 파괴된 세포 잔해물을 탐식하는 소견을 볼 수 있었다. 주사전자현미경 관찰을 통해서 관류 과정후 폐실질 조직의 국소적인 폐포허탈 소견을 볼 수 있었고, 보존 과정 후에는 다발성의 폐포허탈과 함께 경화를 볼 수 있었으며 일부에서는 폐포벽의 비후와 폐포내에 세포 잔해물의 존재를 확인할 수 있었다.

재관류 때 볼 수 있는 내피세포의 소견으로는 세포질 종창, 수포형성, 파괴 및 기저막으로부터 탈락 등을 들 수 있는데, 내피세포의 소실은 세포종창과 밀접한 관련이 있으며, 이 손상은 보존 과정에서 시작하여 재관류과정에서 더욱 현저해 진다²⁴⁾. 본 연구에서 재관류 과정 후에는 폐실질 조직의 경화가 미만성으로 보이면서 폐포내에는 세포잔해물을 포함한 삼출성 물질이 차여 있음을 관찰 할 수 있었다. 이런 주사전자현미경 소견은 광학 현미경 소견과 잘 일치되었으며 더욱 자세한 변화를 볼 수 있었다. 재관류 과정에서 조직 손상이 초래되는 기전은 혈관내피세포에 혈액이 노출되면서 calcium 유입이 cytosolic protease를 촉진하고, 그것은 xanthine dehydrogenase를 xanthine oxidase로 변환시킴으로써 산소 유리기가 만들어지고, 이것이 조직에 손상을 초래하는 것으로 보고 있다^{10, 24)}. Pickford등²⁴⁾은 재관류 과정에서 산소유리기에 의한 세포막 지질의 과산화가 조직손상의 원인으로 보았다. 최근 verapamil과 같이 칼슘 채널 차단 작용 외에 산소유리기를 처리할 수 있는 기능을 가진 첨가제를 사용함으로써 재관류후 야기되는 조직손상을 더욱 감소시킬 수 있다³⁰⁾.

본 연구에서 폐관류 후 공여폐의 조직 변화는 경미하였고, 보존 과정 후에는 중등도의 폐조직 손상을 국소적으로 관찰할 수 있었다. 재관류 과정 후에는 관류 및 보존 과정보다 훨씬 심한 형태학적 변화를 보였으며, 급성 폐손상의 초기 병변에 해당하는 병리조직학적 소견을 보였다. 따라서 공여폐에서 실시하는 보존 및 재관류 과정에서 조직 손상을 최소화하는 것이 폐이식 후 초기의 성공률을 높이는 데 있어서 중요한 요

소가 될 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

연구배경 :

공여폐에 관류 후 보존 과정에서 야기될 수 있는 형태학적 변화와 재관류를 시행한 후 초래될 수 있는 폐조직의 변화를 광학 및 전자현미경으로 검색하여 폐이식 전후 과정에서 초래될 수 있는 폐 손상의 형태학적 변화를 관찰하고자 본 연구를 실시하였다.

방 법 :

실험 재료로는 한국산 성견 46마리를 사용하여 공여견과 수용견으로 나눈다음 공여견에서 폐관류, 폐보존 및 재관류 과정 후 폐조직을 각각 채취하여 형태학적 검색을 하였다.

결 과 :

광학현미경 소견에서 폐관류에 의한 조직손상은 매우 경미하였다. 전자현미경 소견에서 폐포 모세혈관은 불규칙하고, 혈관 내피세포에 종창은 뚜렷하지 않았다. 폐보존 후에는 광학현미경 소견에서 폐포허탈과 경화가 폐관류 군에 비하여 더욱 뚜렷하게 보였고 부분적으로 폐간질 부위가 비후 되었다. 전자현미경 소견에서 폐포 허탈이 뚜렷하면서 I 형 폐포상피세포의 종창 및 파괴와 파괴산물이 폐포내로 유리되었고, 대식세포의 탐식이 현저하였다. 폐포 모세혈관 내피세포는 종창, 수포형성 및 혈관 내로 축각모양 돌기를 관찰할 수 있었다. 재관류후 광학현미경 관찰에서 폐실질의 허탈과 경화가 뚜렷하여 저배율에서 쉽게 볼 수 있었고 폐포 구조의 심한 변형과 폐간질 조직의 비후가 현저하였다. 전자현미경 소견에서 I 형 폐포상피세포는 종창, 수포형성 및 파괴를 보였고 폐포 내로 파괴산물이 자주 보였다. II 형 상피세포의 세포질 내에는 다층판체의 수가 감소하고 내용물은 비어 있었다. 폐포 모세혈관들은 그 형태가 매우 불규칙하였으며 내피세포에서 다수의 수포형성과 종창을 보였고, 혈관 내에는 파괴산물과 축각모양 돌기가 뚜렷하게 보였다. 폐간질 부위는 종창으로 미만성 비후를 보였다. LPDG

용액에 VP와 PGE1을 함께 사용한 군에서는 폐조직의 변화가 경미하였으나 MEC용액에 VP와 PGE1을 사용한 군에서는 폐포 상피세포와 폐포 모세혈관 내피세포의 변화가 보다 현저하였다.

결 론 :

이상의 실험 결과를 토대로 관류에 의한 폐조직 변화는 경미하였고, 보존 후에는 관류군에 비해서 폐조직 손상이 더욱 뚜렷하였다. 재관류 후에는 관류 및 보존 과정보다 훨씬 심한 형태학적 변화를 보였는데 이들 변화는 급성 폐손상의 초기 병변에 해당되었다. 따라서 공여폐에 사용할 적절한 보존액 개발과 함께 보존 및 재관류 과정에서 초래되는 조직 손상을 최소화하는 기술 개발이 폐이식의 성공률을 높이는 데 중요한 요소가 될 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Cooley DA, Bloodwell RD, Hallman GL, Nora JJ, Harrison GM, Leachman RO. Organ transplantation for advanced cardiopulmonary disease. Ann Thorac Surg 8 : 30, 1969
2. Hosenpud JD, Novick RJ, Breen TJ, Keck B, Daily P. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation : Twelfth official report-1995. J Heart Lung Transplant 14 : 805, 1995
3. Kaye MP. The registry of the International Society for Heart and Lung transplantation. Tenth official report-1993. J Heart Lung Transplant 12 : 541, 1993
4. Cooper JD. The evolution of techniques and indications for lung transplantation. Ann Surg 212 : 249, 1990
5. De Hoyos AL, Patterson GA, Maurer JR, Ramirez JC, Miller JD, Winton TL. Pulmonary transplantation : Early and late results. J Thorac Cardiovasc Surg 103 : 295, 1992

6. 이두연, 배기만, 백효채, 박만실, 이원영. 황견에서 좌측 폐이식수술 및 우측 폐동맥 결찰수술 후 폐동맥압 변화에 관한 연구. 대한흉부학회지 27 : 345, 1994
7. 박창권, 이광숙, 유영선, 등. 일측 폐이식 실험견에서 이식 폐의 기능 평가 연구. 대한흉부외과학회지 28 : 1098, 1995
8. 권건영. 폐이식 거부반응의 병리학적 양상 및 분류. 계명대의 논문집 14 : 420, 1995
9. Wahlberg JA, Love R, Landegaard L, Southard JH, Belzer FO. Successful 72 hour preservation of the canine pancreas. Transplantation 43 : 5, 1987
10. Hall SM, Odom N, McGregor CG, Haworth SG : Transient ultrastructural injury and repair of pulmonary capillaries in transplanted rat lung: Effects of preservation and reperfusion. Am J Respir Cell Mol Biol 7 : 49, 1992
11. Mills AN, Hooper TL, Hall SM, McGregor CG, Haworth SG. Unilateral lung transplantation : Ultrastructural studies of ischemia reperfusion injury and repair in the canine pulmonary vasculature. J Heart Lung Transplant 11 : 58, 1992
12. Southard JH, Pienaar H, Mcanulty JF. The University of Wisconsin Solution for organ preservation. In : Morris PJ, Tilney NL, eds. Transplantation reviews Vol. 3. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1989, p 103.
13. Yamazaki F, Yokomise H, Keshavjee SH, et al. The superiority of an extracellular fluid solution over Euro-Collins' solution for pulmonary preservation. Transplantation 49 : 690, 1990
14. Date H, Matsumura A, Manchester JK, et al. Evaluation of lung metabolism during successful 24-hour canine lung preservation. J Thorac Cardiovasc Surg 105 : 480, 1993
15. Fehrenbach H, Riemann D, Wahlers T, Hirt SW, Haverich A, Richter J. Scanning and transmission electron microscopy of human donor lungs : Fine structure of the pulmonary parenchyma following preservation and ischemia. Acta Anat Basel 151 : 220, 1994
16. Luft JH. Improvement in epoxy resin embedding method. J Biophysic Biochem Cytol 9 : 409, 1961
17. Watson ML. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. J Biophysic Biochem Cytol 6 : 475, 1958
18. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol 17 : 208, 1963
19. Higgins RS, Letsou GV, Sanchez JA, et al. Improved ultrastructural lung preservation with prostaglandin E₁ as donor pretreatment in a primate model of heart-lung transplantation. J Thorac Cardiovasc Surg 105 : 965, 1993
20. Fehrenbach H, Hirt SW, Wahlers T, Schnabel PA, Haverich A, Richter J. Euro-Collins flush perfusion in human lung preservation-Ultrastructural studies of the preservation quality of the contralateral donor lung in clinical single lung transplantation. J Heart Lung Transplant 3 : 1, 1994
21. Haverich A, Scott W, Jamieson S. Twenty years of lung preservation—a review. J Heart Transplant 4 : 234, 1985
22. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue injury. N Engl J Med 312 : 159, 1985
23. Block ER, Patel JM, Angelides KJ, Sheridan NP, Garg LC : Hyperoxia reduces plasma membrane fluidity : a mechanism of endothelial cell dysfunction. J Appl Physiol 60 : 826, 1986
24. Pickford MA, Green CJ, Sarathchandra P, Fryer

- PR. Ultrastructural changes in rat lungs after 48 hour cold storage with and without preservation. *Int J Exp Pathol* 71 : 513, 1990
25. Kawahara K, Itoyanagi N, Takahashi T, Akamine S, Kobayashi M, Tomita M. Transplantation of canine lung allografts preserved in UW solution for 24 hours. *Transplantation* 55 : 15, 1993
26. Steen S, Sjöberg T, Massa G, Ericsson L, Lindberg L. Safe pulmonary preservation for 12 hours with low-potassium-dextran solution. *Ann Thorac Surg* 55 : 434, 1993
27. Starkey TD, Sakakibara N, Hagberg RC, Tazelaar HD, Baldwin JC, Jamieson SW. Successful six hour cardiopulmonary preservation with simple hypothermic crystalloid flush. *Heart Transplant* 5 : 291, 1986
28. Yamazaki F, Yokomise H, Keshavjee SH, et al. The superiority of an extracellular fluid solution over Euro-Collins' solution for pulmonary preservation. *Transplantation* 49 : 690, 1990
29. Lehtola A, Harjula L, Heikkilä P, et al. Single lung allotransplantation in pigs : A morphologic study of tissue preservation with modified Euro-Collins and fluorocarbon solution. *Transplantation* 49 : 1066, 1990
30. Bolli R : Oxygen-derived free radicals and myocardial reperfusion injury : An overview. *Cardiovasc Drugs Ther* 5 : 249, 1991
-