

동물 실험 모델에서 적용한 이종대동맥판막도관의 조직보존방법 비교; 신선 냉동보존과 무세포화 냉동보존

김창영* · 김경환** · 문경철*** · 김웅한** · 성시찬**** · 김용진**

Comparison of Different Methods of Aortic Valve Conduit Xenograft Preservation in an Animal Experiment Model; Fresh Cryopreservation versus Acellularized Cryopreservation

Chang Young Kim, M.D.*, Kyung-Hwan Kim, Ph.D.**, Kyung Chul Moon, M.D.***, Woong-Han Kim, Ph.D.**, Si-Chan Sung, Ph.D.****, Yong-Jin Kim, Ph.D.**

Background: The commercially used vascular xenografts have some problems such as calcification, fibrosis and tissue degeneration that are associated with inflammatory and immunologic reactions. We compared two methods of xenograft preservation (fresh cryopreservation versus acellularized cryopreservation) of goat aorta. **Material and Method:** Aortic valved xenografts were harvested from adult pigs, and these were preserved using fresh cryopreservation (FC group, n=4) or acellularized cryopreservation (AC group, n=4). These xenografts were implanted into adult goats. There were 2 short-term survivors (less than 100 days) and 2 long-term survivors in each group. These xenografts were explanted and they underwent microscopic examination. **Result:** The goats survived 31, 40, 107 and 411 days in the FC group and the other goats survived 5, 40, 363 and 636 days in the AC group. All the short-term survivors in each group expired because of rupture at the proximal anastomosis site. Marked neutrophil infiltration was observed in the FC group and lymphocytes were observed in the AC group. There were no differences in the occurrence of calcification, fibrosis and thrombosis among the groups. **Conclusion:** Some goats survived more than 100 days after the xenograft implantation irrespective of the methods of preservation. Because severe tissue degeneration developed in both groups, we think these methods are not appropriate for xenograft preservation of aorta. It was worth a preliminary trial for improving the preservation method or to modify the processing of xenografts.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2010;43:11-19)

Key words: 1. Xenograft
2. Tissue preservation
3. Conduits

*인제대학교 일산백병원 흉부외과

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Ilsan Paik Hospital, College of Medicine, Inje University

**서울대학교 의과대학 서울대학교병원 흉부외과학교실, 임상의학연구소, 바이오 이종장기개발사업

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Seoul National University Hospital, Seoul National University College of Medicine, Clinical Research Institute, Xenotransplantation Research Center

***서울대학교 의과대학 서울대학교병원 병리학교실

Department of Pathology, Seoul National University Hospital, Seoul National University College of Medicine

****양산부산대학교 의학전문대학원 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Pusan National University

†본 연구는 보건복지가족부 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(과제고유번호: A040004-008).

논문접수일 : 2009년 9월 15일, 논문수정일 : 2009년 11월 12일, 심사통과일 : 2009년 11월 13일

책임저자 : 김경환 (110-744) 서울시 종로구 연건동 28번지, 서울대학교병원 흉부외과

(Tel) 02-2072-3971, (Fax) 02-765-7117, E-mail: kkh726@snu.ac.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

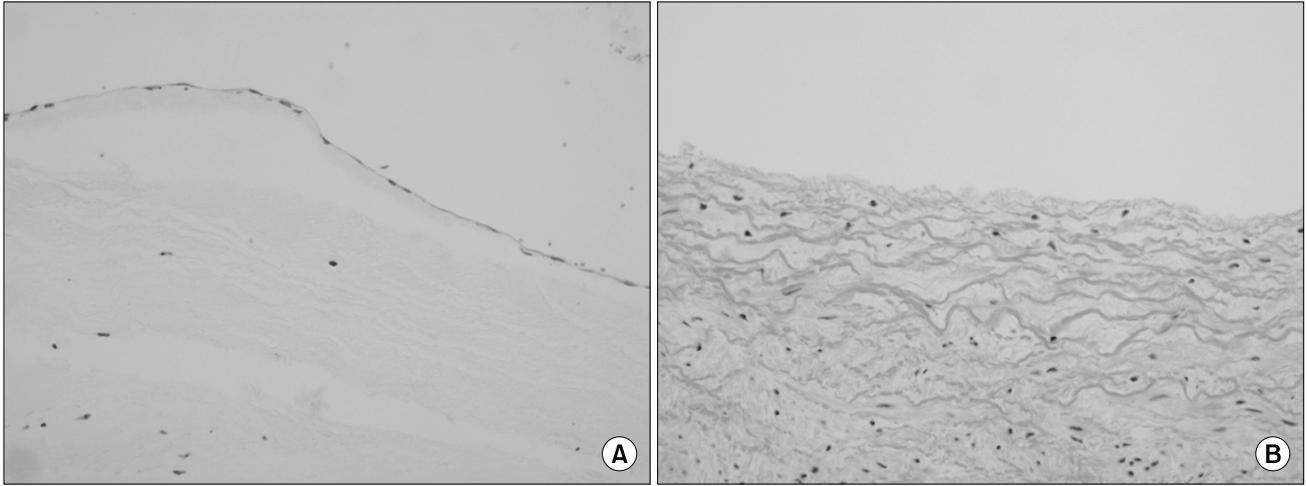


Fig. 1. Comparison of the changes after fresh cryopreservation (A) and acellularized cryopreservation (B) process. All tissues are stained with hematoxylin and eosin. LM x400.

서 론

현재 사용되는 다양한 이식편 중 상업적으로 이용 가능한 이중조직판막은 조직의 석회화, 섬유화, 피로변성, 염증반응 또는 이중항원에 기인한 면역반응에 의한 조직 손상 등 다양한 형태의 조직변형이 발생하는 문제점을 가지고 있다. 본 연구에서는 대동물에서 이중대동맥판막도관을 채취하여 각각 다른 냉동보존법으로 보존한 후에 이중대동물에 이식한 뒤 적출하여, 폐순환계에 비해서 상대적으로 높은 압력 환경에 지속적으로 노출되는 체순환계에서의 조직보존방법에 따른 조직변형과 장기 성적의 차이를 비교해 보고자 하였다.

대상 및 방법

본 실험에서는 무균돼지(80~85 kg)에서 대동맥판막도관을 채취하여 각각의 방법에 따라 냉동보존을 한 후 인공심폐기 보조 하에서 염소(35~40 kg)의 하행흉부대동맥에 이식하였고, 조직보존 방법에 따라 각각 100일 이상의 장기생존 2마리와 단기생존 2마리에서 이식된 이중대동맥판막도관을 적출하여 조직변형을 비교 관찰하였다. 돼지에서 대동맥판막도관의 적출은 2005년 12월부터 2007년 1월 사이에 시행하였고, 대동맥이식도관을 돼지에서 채취하여 염소에 이식하기까지 평균 171일간(14일~737일) 냉동보존하였다.

본 실험은 임상의학연구소 동물실험위원회 심의(IACUC

No 05190)를 거치고, 모든 실험과정에서 동물실험에 관한 윤리규정을 준수하였다.

1) 돼지 대동맥판막도관의 채취과 냉동보존 전처리

전신마취 하에서 무균 돼지를 정중 흉골절개하여 심낭을 개방하고 배양검사를 실시하였다. 대동맥, 폐동맥, 상대정맥 및 하대정맥을 차단한 후에 심장을 적출하였다. 적출된 신선한 돼지 심장을 하트만 용액으로 세척한 후에 박리하여 대동맥 근부와 승모판의 전엽이 포함된 대동맥판막도관을 채취하고 도관의 크기를 측정하였다. 채취된 대동맥판막도관은 인산염 완충 식염수(phosphated buffered saline, PBS, pH 7.4) 용액으로 여러 번 세척한 후에 인산염 완충 식염수 100 cc당 복합항균제제(antibiotic & antimycotic solution, Sigma, 100 U penicillin, 0.1 mg streptomycin, 0.25 g/ml amphotericin) 1 cc를 넣은 보존액에 24시간 동안 4°C에서 냉장 보관하였다.

2) 이중대동맥판막도관의 조직보존방법

(1) 신선 냉동보존(fresh cryopreservation): 냉장 보존액 100 cc에서 10 cc를 빼고 남은 90 cc의 냉장 보존액에 DMSO (Dimethyl Sulfoxide) 10 cc를 혼합하였다. 이 혼합액을 40 cc씩 대동맥판막도관 보관용 Falcon tube에 넣고 균 배양검사를 실시하였다. Falcon tube와 인식판(identification disc)을 냉동 용기에 넣고 공기를 빼서 열봉합(heating sealing)하였다. 같은 방법으로 냉동 용기를 이용하여 3중 보관하였다. 이를 냉동 속도 조절법(programmed freezing)을 이용

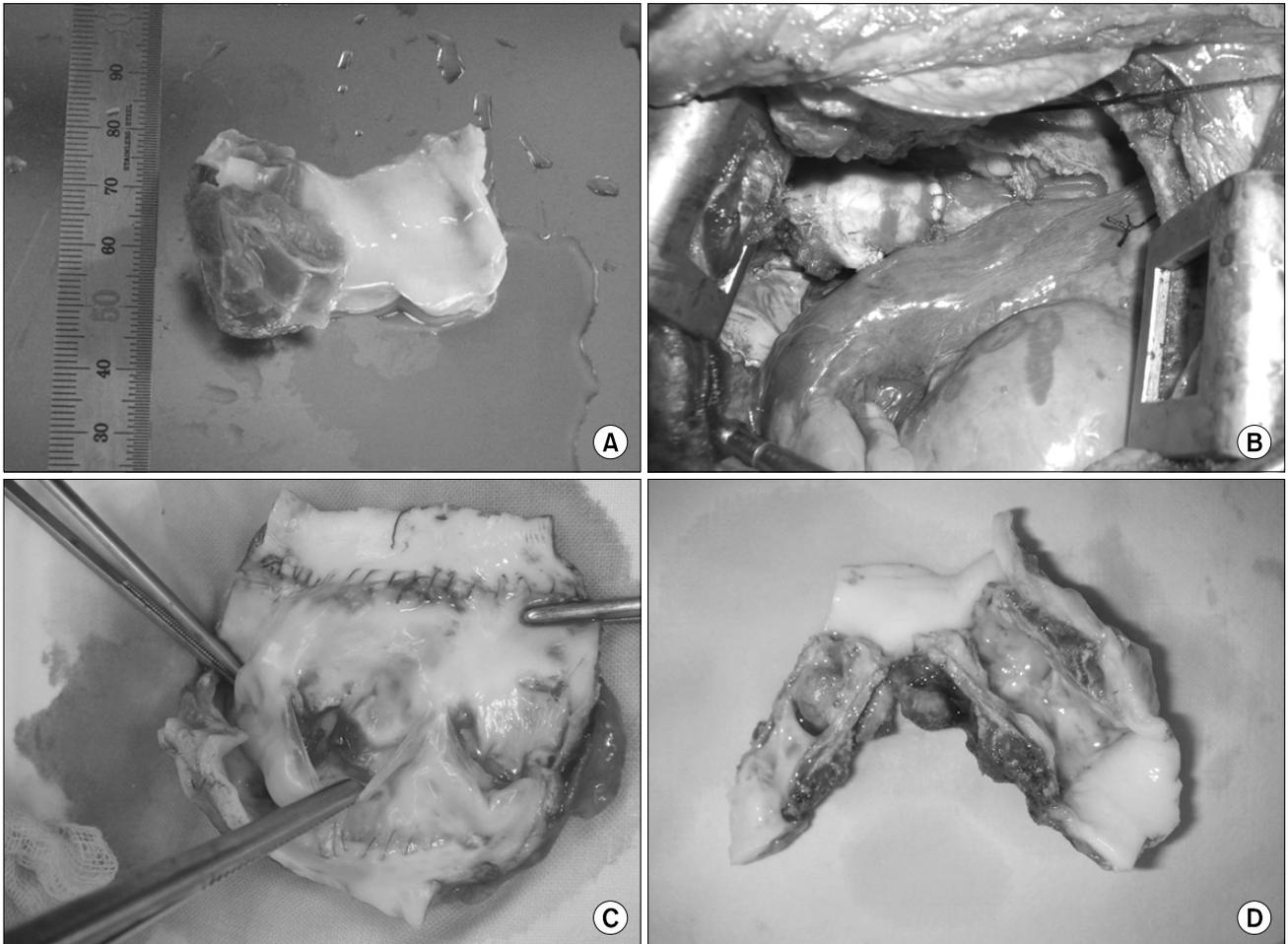


Fig. 2. Gross pictures of the prepared xenograft before implantation (A), implanted (B) and harvested xenografts with fresh cryopreservation (C) and acellularized cryopreservation (D).

하여 냉동시킨 뒤 액체질소탱크에서 -196°C 로 보관하였다.

(2) 무세포화 냉동보존(acellularized cryopreservation): 대동맥판막도관을 1.5 M 염화나트륨 용액에 넣고 37°C 항온기에서 24시간 동안 12 rpm으로 보관한 후에 인산염 완충 식염수로 세척하였다. 세척한 도관을 0.5% SDS (sodium dodecyl sulfate; SDS, 1 g: 200 g) 용액으로 37°C 항온기에서 1시간 동안 처리한 뒤에 판막도관에서 분해되어 나온 세포 및 조직파편들과 잔존한 SDS 용액을 제거하기 위하여 다시 4 L의 인산염 완충 식염수로 48시간 동안 21 rpm으로 처리하고 균 배양검사를 실시하였다. 이후에는 신선 냉동보존 군에서 시행한 과정을 동일하게 처리하여 액체질소탱크에 보관하였다.

3) 무세포화의 확인

이상적인 무세포화를 시행하기 위해서는 조직의 세포

Table 1. Characteristics of aortic valvular xenograft

Goat number	Fresh cryopreserved				Acellularized cryopreserved			
	FC1	FC2	FC3	FC4	AC1	AC2	AC3	AC4
Cryopreservation period (days)	14	16	32	91	59	49	737	368
Xenograft size (mm)	14	16	14	14	12	12	22	13
Descending aorta of goats (mm)	10	10	10	10	8	8	8	8
Survival (days)	107	411	40	31	636	363	5	40
Cause of death	S	S	R	R	S	R	R	R

AC=Acellularized cryopreservation; FC=Fresh cryopreservation;

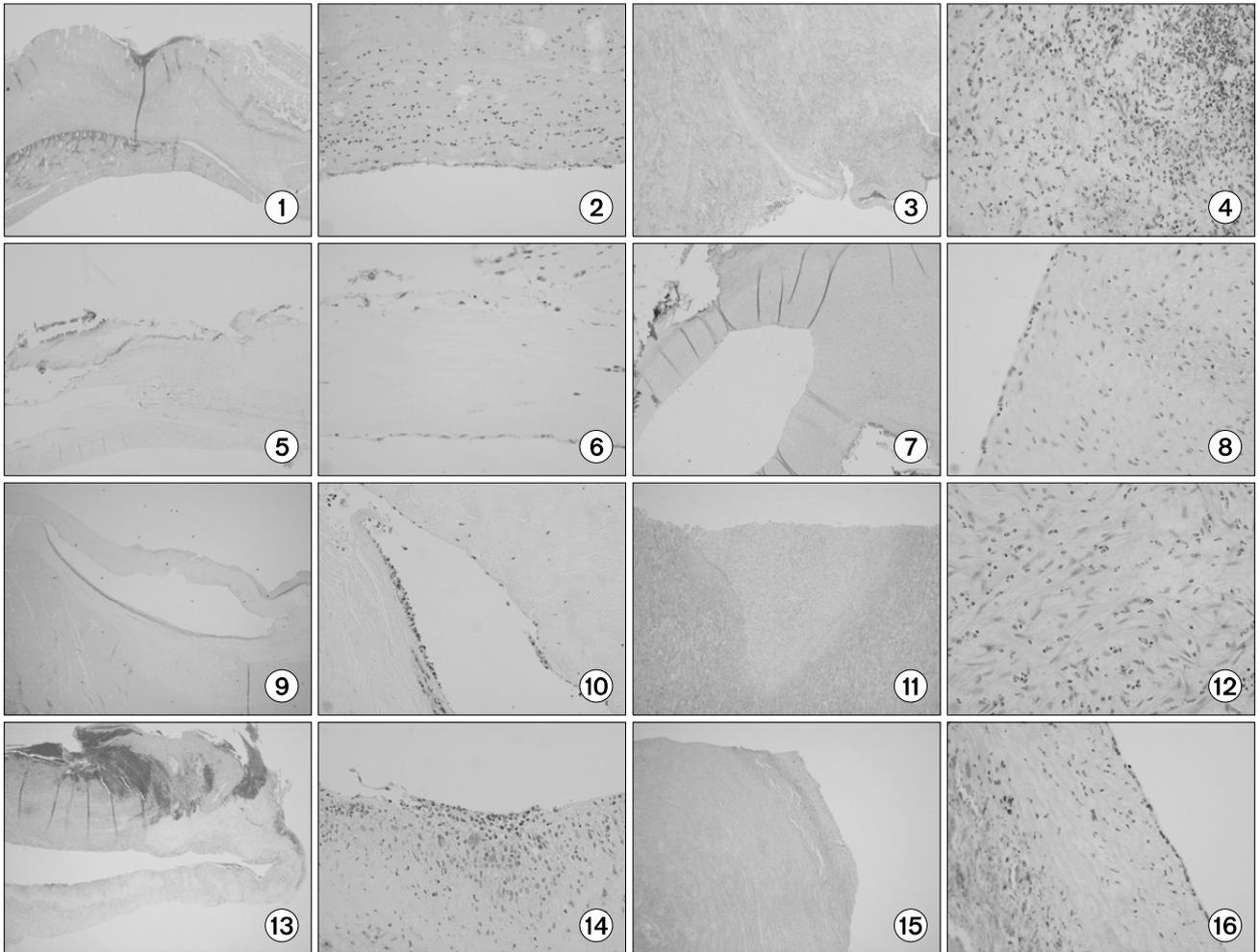


Fig. 3. Light microscopic photomicrographs taken from the group FC (FC1=1~4, FC2=5~8, FC3=9~12, FC4=13~16) and the group AC (AC1=17~20, AC2=21~24, AC4=25~28). Every four pictures taken from one xenograft and presented in order as follows; ×40 aortic valve, ×400 aortic valve, ×40 aortic wall and ×400 aortic wall. All tissues are stained with hematoxylin and eosin. LM ×40 or ×400. FC=Fresh cryopreservation; AC=Acellularized cryopreservation.

성분이 완전히 제거될 수 있어야 하고, 조직의 물리적인 성질 및 조직공학적 측면에서 조직 지지체로 사용되는 세포 외 기질이 가급적 온전히 보존되어야 하며, 무세포화 처리과정에서 사용한 세정제나 화학물질들이 완전히 제거될 수 있어야 한다[1]. 본 연구에서는 무세포화 처리과정 직후에 조직을 일부 채취하여 hematoxylin-eosin (H&E) 염색을 통해 세포 및 세포핵의 잔존여부를 확인하였는데, 혈관벽과 근육에서는 완전한 무세포화 상태를 확인하는 것이 어렵고 혈관 내피세포의 무세포화만 확인이 가능하였으므로, 이에 추가적으로 세포 외 기질의 조밀성을 눈으로 확인함으로써 무세포화 여부를 확인하였다(Fig. 1).

4) 염소에게 돼지 대동맥판막도관의 이식

사육장에서 염소에게 Ketamine (11 mg/kg)과 xylazine (0.22 mg/kg)을 근주하여 마취유도를 시행하고 실험실로 옮긴 뒤 우측 양아귀에서 기도삽관을 시행하였다. 실험 중에는 심전도, 말초 산소분압 및 말초 동맥혈압을 지속적으로 관찰하면서 Isoflurane과 Ketamine을 이용하여 전신마취를 유지하였다. 수술부위의 털을 제거하고 소독한 뒤에 4번째 늑간을 통해 좌측 흉부절개를 시행하여 이식 부위 하행대동맥을 관찰하였다. 냉동보존된 돼지의 대동맥판막도관을 Falcon tube에 담긴 채로 40°C 생리식염수에서 2분간 부분 해동한 뒤에 꺼내어 하트만 용액에 2분간 해

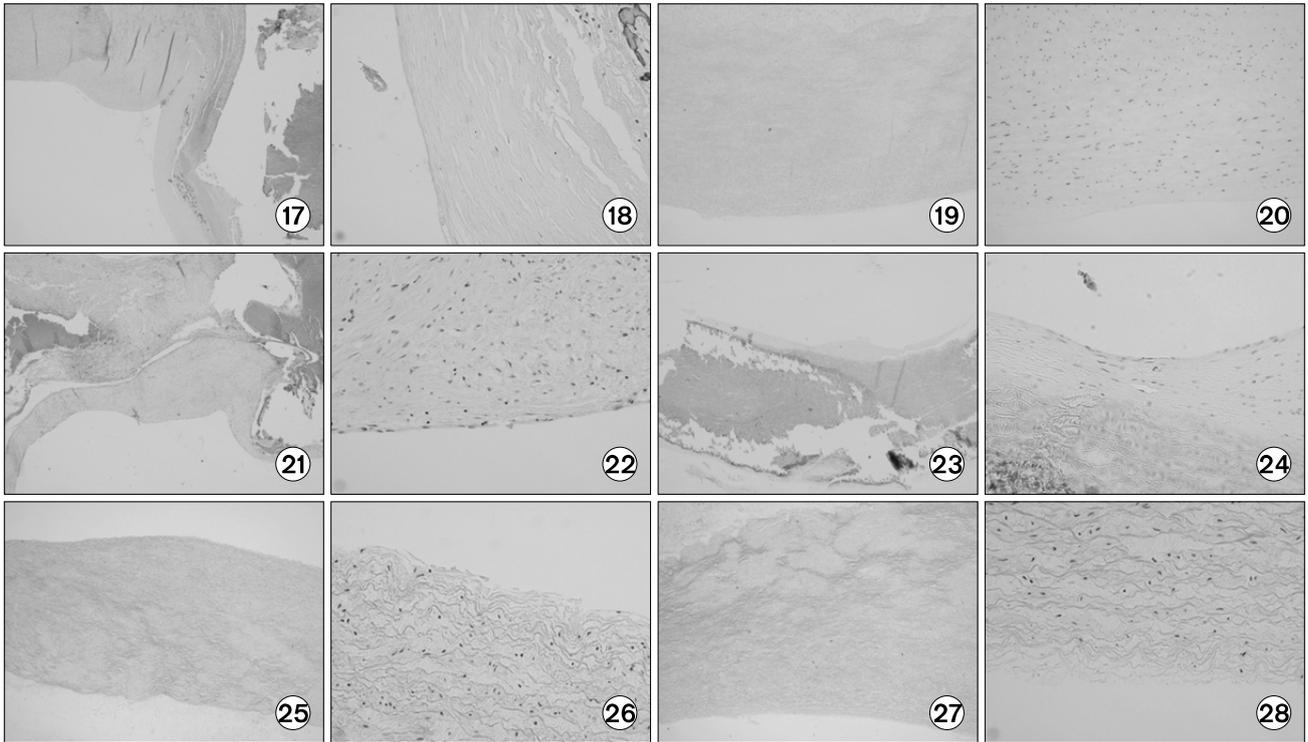


Fig. 3. Continued.

동하였고 해동에 사용한 하트만 용액 중 일부를 채취하여 균 배양검사를 시행하였다(Fig. 2). 해동된 이종대동맥판막도관을 이식에 용이하도록 대동맥 근부의 모양을 다듬고 관상동맥 기시부를 절찰하였다. 헤파린을 정주한 뒤, 이식 예정부위보다 원위부의 하행흉부대동맥에 동맥 캐놀라를 삽관하였고, 심낭을 절개하고 좌폐동맥을 노출시켜 정맥 캐놀라를 삽관하였다. 심폐바이패스를 가동하면서 이종대동맥판막도관을 이식하는 동안 상지와 두경부의 혈액순환은 자가 심장을 통해 이루어지도록 하였고, 대동맥결자 원위부는 심폐기를 통해 체외순환이 이루어지도록 하여 척수허혈, 급성 신부전 등 실험 후 합병증의 가능성을 최소화하였다. 이식 예정부위의 근위부 및 원위부에서 하행흉부대동맥을 차단한 뒤 대동맥을 절제하고 이종대동맥판막도관을 문합하였다(Fig. 2). 심폐기를 이탈하고 출혈을 조절한 뒤에 흉관을 삽관하고 수술 절개부위를 봉합하였다. 모든 실험과정을 마친 후에 실험실에서 기도삽관, 흉관 및 동맥도관을 모두 제거하였고, 염소의 전신상태가 안정되는 것을 관찰한 뒤에 사육장으로 이송하였다. 염소는 실험 전날 오전부터 금식을 시행하였고 실험 전 및 실험 후 2일간 세파줄린 1.0 g을 경구 투여하였으며 실험 후에 항응고제는 투여하지 않았다.

5) 이종대동맥판막도관의 추출

마취유도 및 유지는 이종대동맥판막도관의 이식실험과 동일한 방법을 사용하였다. 우측 양아위에서 좌측 4번 간을 통해 이전에 이식을 시행했던 하행흉부대동맥으로 접근하였다. 헤파린(100 IU/kg)을 투여한 뒤에 KCl을 투여하여 심정지를 유도하였다. 절제 예정부위의 근위부와 원위부 대동맥을 차단한 뒤에 염소의 대동맥 자가조직이 포함되도록 이식된 이종대동맥판막도관을 적출하였다(Fig. 2). 적출된 이종대동맥판막도관은 H&E 염색, Masson's trichrome 염색, von Kossa 염색 등을 시행하여 석회화, 섬유화, 염증 반응에 의한 조직손상 등의 조직변성 정도를 관찰하였다.

결 과

실험에 사용된 이종대동맥판막도관의 특징은 Table 1과 같다. 총 8마리의 염소 중 초기 사망한 4마리의 모든 염소(FC3, FC4, AC3, AC4)와 100일 이상 장기 생존한 염소 중 무세포화 군의 1마리(AC2) 등 모두 5마리가 근위부 문합부위의 파열로 사망하였다.

Table 2. Pathologic findings associated with inflammation in aortic valvular xenograft

	Inflammation into myocardium	Cell type	Myocyte injury	Inflammation in other area	Cell type	Necrosis in other area
FC1	No	No	Total necrosis	Marked	Neutrophils	Marked
FC2	No	No	Total necrosis	Moderate	Lymphocytes	Minimal
FC3	Marked	Neutrophils	Total necrosis	Marked	Neutrophils	Moderate
FC4	No	No	No	Marked	Neutrophils, lymphocytes	Mild
AC1	Moderate	Lymphocytes	Moderate	Marked	Lymphocytes, plasma cell	Marked
AC2	No	No	Mild	Moderate	Lymphocytes	Moderate
AC4	No	No	Moderate	Mild	Lymphocytes	No

AC=Acellularized cryopreservation; FC=Fresh cryopreservation.

Table 3. Pathologic findings except for inflammation in aortic valvular xenograft

	Calcification	Fibrosis	Fibroblast proliferation	Thrombosis
FC1	Moderate	Marked	Moderate	Marked
FC2	Marked	Marked	Marked	Mild
FC3	No	Marked	Marked	No
FC4	Moderate	Marked	Marked	Marked
AC1	Moderate	Marked	Moderate	Marked
AC2	Marked	Marked	Moderate	No
AC4	No	Moderate	No	No

AC=Acellularized cryopreservation; FC=Fresh cryopreservation.

석회화, 섬유화, 염증반응 등의 조직변성 정도와 혈전 형성 정도를 관찰하기 위해 H&E 염색, Masson's trichrome 염색 및 von Kossa 염색을 시행하였으며, 그림은 냉동보존법에 따른 염증반응의 비교가 용이한 H&E 염색을 수록하였다(Fig. 3). 무세포화 처리를 시행한 단기생존 염소 중 1마리(AC3)는 사망 후에 이종대동맥판막도관 조직을 채취하여 조직 슬라이드를 제작하는 과정에서 심각한 인위적 조직 손상이 발생하여 판독에서 제외하였다. 조직학적 검사에서 관찰된 소견을 각각의 이종대동맥 판막도관에 대해 반정량적으로 평가하였다(Table 2, 3). H&E 염색에서 심근 또는 심근 주변으로의 염증세포 침윤과 이로 인한 심근세포 또는 주변조직의 손상 등의 염증 반응은 신선 냉동보존을 시행한 경우에 비해 무세포화 냉동보존을 시행한 경우가 전반적으로 더 심한 것으로 관찰되었으나 생존기간에 대해서는 일관된 차이가 관찰되지 않았으며, 특히 신선 냉동보존 군에서는 심근 또는 주변 조직으로 침윤한 염증세포가 주로 호중구인 반면, 무세포화 냉동보존 군에서는 주로 림프구가 침윤한 것으로 관찰되었다. 반면,

H&E 염색, Masson's trichrome 염색 및 von Kossa 염색에서 석회화, 섬유화, 섬유모세포의 침윤, 혈전 형성 등의 소견은 생존기간이 긴 경우가 짧은 경우보다 전반적으로 심하였으며, 냉동보존법에 따른 차이는 관찰되지 않았다.

고 찰

본 연구에서는 신선 냉동보존 또는 무세포화 냉동보존을 이용하여 이종대동맥판막도관을 보존 처리하였을 때 두 군에서 모두 심각한 조직변성이 발생하여 이 두 가지 방법은 이종대동맥판막도관을 적절히 보존 처리할 수 없는 것으로 관찰되었다.

일반적으로 수술부위의 염증이 심하거나 감염이 적절하게 조절되지 않은 경우, 결체조직질환을 비롯한 자가면역질환이 동반된 경우, 복합 선천성 심기형 등에서는 인조혈관보다는 동종도관을 사용하는 것이 유리하지만, 현실적으로는 적합한 크기의 동종도관을 적절한 시기에 확보하기가 어렵기 때문에 실제 임상에서 동종도관의 사용은 매우 제한적일 수밖에 없다. 이에 비해 이종도관은 충분한 공급을 확보할 수 있다는 장점을 가지는 반면에 이전의 여러 연구에서 동종도관에 비해 도관 개통률의 저하로 인한 조기 실패율이 높다는 단점이 지적되고 있다[2-4].

이상적인 도관은 내구성(durability), 성장 가능성(growth potential), 조직 적합성(biocompatibility), 조작의 용이함(easy handling), 항 감염성(resistance to infection) 등의 특징을 가지는 것이 바람직하다[5]. 이와 함께 이종도관의 이식이 가능하기 위해서는 초급성 거부반응(hyperacute rejection), 급성 혈관 거부반응(acute vascular rejection), T 세포 매개 거부반응(T cell-mediated rejection) 등을 포함한 면역학적인 문제, 체내 또는 체외의 미생물에 의해 유발되는 미생물학적 문제, 도관내 혈전이나 미만성 혈관내 응고(DIC)

와 연관된 생리학적 문제 등이 해결되어야 한다[6]. 이러한 문제점이 해결된 이상적인 이종도관을 개발하기 위해, 도관을 확보한 후에 장시간 보존이 가능한 냉동보존법(cryopreservation)의 개발[7,8], 무세포화를 통한 항원성의 제거[1,6,9,10], Ethanol로 조직 내 인지질(phospholipids)을 제거하고 콜라겐의 크기와 수를 감소시켜 영구적인 변화를 초래하고 석회화 형성을 억제시키는 방법[10,11], glutaraldehyde의 aldehyde기가 체내의 칼슘과 결합하면서 발생하게 되는 석회화를 줄이기 위해 미리 amino acid를 전처리하여 aldehyde기에 결합시키는 diamine bridge를 유도하거나[12,13], glutaraldehyde의 세포 독성(cytotoxicity)으로 인해 glutaraldehyde 전처리를 시행한 이식편에 내피화가 이루어지지 않는 점을 고려하여 glutaraldehyde의 농도를 조절하거나 세포독성을 세척 또는 중화시키는[6,10,14,15] 등 다양한 방법들이 연구되고 있다.

이 연구에서, 신선 냉동보존 군에서는 심근 세포 또는 주변 조직으로 침윤한 염증세포가 주로 호중구인 반면, 무세포화 냉동보존 군에서는 주로 림프구가 침윤한 것으로 관찰되었다. 무세포화 냉동보존 군에서는 무세포화 조직처리 과정을 통해 항원성이 제거되면서 주로 림프구 매개에 의한 조직손상이 발생한다[6] 반면, 신선 냉동보존 군에서는 이종이식도관이 손상될 때 호중구의 역할이 중요한 것으로 해석할 수 있다[16]. 하지만 탈세포화 과정을 통해 항원성을 제거하더라도 석회화, 섬유화, 혈전 형성 등을 줄이지는 못하는 것으로 관찰되었다.

본 실험을 계획하는 초기단계에서 척수 허혈에 기인할 것으로 추정되는 하지마비가 발생하거나 이종대동맥판막도관을 이식한 직후 이식부에 파열이 발생하는 문제점을 보완하기 위해 문합 근위부는 자가 심장을 통해, 또 문합 원위부는 인공심폐기를 통해 혈액순환을 유지하여 척수 허혈을 최소화하고 문합부위의 노출을 최적화하여 가급적 안정된 문합을 시행하고자 하였다. 이전의 이종대동맥도관 실험에서는 대개 생체에 직접 이식하지 않은 상태로 실험을 시행하거나[10] 공여자의 채취부위와 수여자의 이식부위가 상이한 반면[6] 본 실험에서는 대동맥근부 전체를 채취하여 수여자의 대동맥에 이식하였다. 다만 대동물에서 대동맥근부를 노출하기 위한 정중흉골 절개를 통한 접근이 용이하지 않다는 점, 대동맥근부 문합 및 관상동맥 문합 등이 이식과정 자체의 위험도를 증가시킬 수 있다는 점 등을 고려하여 본 실험에서는 대동맥근부에 직접 이식하지 않고 하행흉부대동맥에 이식하였다.

본 실험을 시행하는 동안 발생한 문제점으로는 과반수

이상에서 대동맥판막도관 이식부위에 파열이 발생하였다는 점을 들 수 있다. 특히 조기에 사망한 염소들은 모두 대동맥 파열로 사망하였으며, 파열부위는 모두 이식 근위부였다. 본 실험에서 이식 근위부의 파열이 흔히 발생한다는 이유로는, 대동맥 근부 및 대동맥판막의 변화를 관찰하기 위해 이종대동맥판막도관을 이식할 때 가급적 대동맥 근부의 심근을 포함하여 근위부 문합을 시행하면서 문합부위의 약화가 초래될 가능성과 실험이 종료된 후 사육을 하는 동안 적절한 혈압조절이 시행되지 못한 점 등을 고려할 수 있다. 이는 판막과 혈관의 변화를 모두 관찰하려고 한 초기 목표에 따라 대동맥 근부 전체를 이식함으로써 상대적으로 직경이 큰 대동맥 근부를 하행 흉부대동맥에 문합하여 생긴, 어느 정도는 예측된 결과로 판단되며, 향후 이러한 문제를 해결하기 위해서 대동맥도관만을 이용하는 방법, 이식할 이종대동맥판막도관에서 대동맥 근부 및 판막을 충분히 제거하여 문합부의 약화를 최소화하고 문합부에 가해지는 저항을 최소화하는 방법, 대동맥판막의 판륜 부위를 형겅 등으로 보강하는 방법, 또는 실험 후 일정기간 동안 항고혈압제를 투여하는 방법 등을 고려해 볼 수 있다.

돼지와 염소는 종 상호간의 면역학적인 차이로 인하여 이종장기 이식 시 급성 거부반응을 유발할 수 있지만, 혈관의 경우에는 거부 반응이 발생하더라도 도관으로서의 기능을 유지할 수 있으며 주 이종반응 항원(major xenoreactive antigen)인 alpha-Gal 입장에서는 concordant transplantation이라는 점, 돼지의 장기와 혈관은 구조학적으로 인간과 유사하여 향후 이종장기로서의 활용가능성이 많다는 점 등을 고려하여 본 실험을 계획하였고, 기초실험으로서 두 가지 냉동보존법을 비교하는 실험을 시행하였다[17].

결 론

이 실험은 대상 개체수가 적어 통계적인 유의성을 검증하기 어렵고, 대동맥판막도관을 포함하여 다른 이식 실험에 사용될 모든 장기들을 동시에 적출하고 이를 이식하는 일정을 동시에 시행하는 것이 현실적으로 곤란하여 대동맥판막도관 적출에서 이식까지 평균 171일(14~737일) 동안 냉동보존 및 해동하는 과정 중에 조직이 손상되었을 가능성이 있다는 문제점이 있지만, 이 연구를 통해 차후 유사한 동물 실험을 수행하기에 앞서 유용한 초기 실험 모델을 개발하고, 조직 소견을 통해 다양한 냉동보존법의

유효성을 비교, 검증하는 과정을 제시하고자 하였다.

참 고 문 헌

1. Park CS, Kim YJ, Sung SC, et al. *Study on effective decellularization technique for xenograft cardiac valve, arterial wall and pericardium; optimization of decellularization*. Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2008;41:550-62.
2. Jamieson WRE, Rosado LJ, Munro AI, et al. *Carpentier Edwards standard porcine bioprosthesis: primary tissue failure (structural valve deterioration) by age groups*. Ann Thorac Surg 1988;46:155-62.
3. Human P, Zilla P. *Characterization of the immune response to valve bioprosthesis and its role in primary tissue failure*. Ann Thorac Surg 2001;71(Suppl):S385-8.
4. Simon P, Kasimir MT, Seebacher G, et al. *Early failure of the tissue engineered porcine heart valve SynerGraft in pediatric patients*. Eur J Cardiothorac Surg 2003;23:1002-6.
5. Mayer JE. *Tissue engineering for cardiac valve surgery*. In: Cohn LH. *Cardiac surgery in the adult*. 3rd ed. New York: McGraw-Hill co. 2007;1649-56.
6. Jo WM, Sohn YS, Choi YH, Kim HJ, Cho HD. *Modified acellularization for successful vascular xenotransplantation*. J Korean Med Sci 2007;22:262-9.
7. O'Brien MF, Stafford EG, Gardener MA, Pholner PG, McGiffin DC. *A comparison of aortic valve replacement with viable cryopreserved and fresh allograft valves with a note on chromosomal studies*. J Thorac Cardiovasc Surg 1987; 94:812-23.
8. Brockbank KG, Donovan TJ, Ruby ST, Carpenter JF, Hagen PO, Woodley MA. *Functional analysis of cryopreserved veins. preliminary report*. J Vasc Surg 1990;11:94-102.
9. Cebotari S, Mertsching H, Kallenbach K, et al. *Construction of autologous human heart valves based on an acellular allograft matrix*. Circulation 2002;106:163-8.
10. Kim KC, Lee C, Choi CH, et al. *Development of porcine pericardial heterograft for clinical application (tensile strength-thickness)*. Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2008;41: 170-6.
11. Jastrzebska M, Wrzalik R, Kocot A, Zalewska-Rejda J, Cwalina B. *Raman spectroscopic study of glutaraldehyde-stabilized collagen and pericardium tissue*. J Biomater Sci Polym Ed 2003;14:185-97.
12. Humana P, Bezuidenhout D, Torriannib M, Hendriks M, Zilla P. *Optimization of diamine bridges in glutaraldehyde treated bioprosthetic aortic wall tissue*. Biomaterials 2002; 23:2099-103.
13. Kim KC, Choi YK, Kim SH, Kim YJ. *Effect of diamine bridges using L-lysine in glutaraldehyde treated porcine pericardium*. Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2009;42:157-64.
14. Gendler E, Gendler S, Nimni ME. *Toxic reactions evoked by glutaraldehyde-fixed pericardium and cardiac valve tissue bioprosthesis*. J Biomed Mater Res 1984;18:727-36.
15. Zilla P, Brink J, Human P, et al. *Prosthetic heart valve: Catering for the few*. Biomaterials 2008;29:385-406.
16. al-Mohanna F, Collison K, Parhar R, et al. *Activation of naive xenogeneic but not allogeneic endothelial cells by human naive neutrophils: a potential occult barrier to xenotransplantation*. Am J Pathol 1997;151:111-20.
17. Macher BA, Galili U. *The Gal α 1,3Gal β 1,4GlcNAc-R (α -Gal) epitope: A carbohydrate of unique evolution and clinical relevance*. Biochim Biophys Acta 2008;1780:75-88.

=국문 초록=

배경: 현재 사용되는 다양한 이식편 중 상업적으로 이용 가능한 이중조직도관은 조직의 석회화, 섬유화, 염증 및 면역반응에 의한 조직 손상 등 조직변형이 발생하는 문제점을 가지고 있다. 본 연구에서는 높은 압력에 노출되는 대동맥부위의 이중판막도관을 조직보존방법에 따라 비교해 보고자 하였다. **대상 및 방법:** 돼지로부터 채취한 이중대동맥판막도관을 신선 냉동보존 및 무세포화 냉동보존으로 처리한 후 염소의 대동맥에 이식하였다. 생존기간에 따라 각각 2마리씩의 단기 생존(100일 미만) 및 장기 생존한 염소에서 이식했던 판막도관을 추출하여 조직학적 변화를 관찰하였다. **결과:** 신선 냉동보존 군은 각각 31일, 40일, 107일, 411일 생존하였고, 무세포화 냉동보존 군은 각각 5일, 40일, 363일, 636일 생존하였다. 이중 단기 생존한 모든 염소는 문합 부위의 파열로 사망하였다. 신선 냉동보존 군에서는 침윤한 염증세포가 주로 호중구인 반면, 무세포화 냉동보존 군에서는 주로 림프구가 관찰되었다. 석회화, 섬유화, 혈전 형성 등의 빈도는 두 군간에 차이가 없었다. **결론:** 두 가지 처리법으로 이중대동맥판막도관을 보존 후 장기 생존 유도가 일부에서 가능하였다. 두 군에서 모두 심각한 조직변형이 발생하여 이중도관을 적절히 보존 처리할 수 없었던 것으로 관찰되었다. 향후 개선된 보존법이나 변형된 판막도관 처리법의 개발 등의 실험연구에 기초자료로 가치가 있다고 판단된다.

- 중심 단어 : 1. 이중이식편
2. 조직보존
3. 대동맥판막도관