

쥐의 간에서 간내 허혈성 재관류 손상 방지를 위한 허혈성 후처치의 효과

고려대학교 의과대학 간담췌외과학교실

김정윤, 최새별, 한형준, 김완배, 김동식, 송태진, 최상용, 서성욱, 김영철

연구목적: 쥐의 간에서 허혈성 모델을 만들고 재관류 전 IPC를 시행한 뒤 쥐의 혈청에서 alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST)를 측정하여 간 기능부전 정도를 파악하고, 쥐의 간 조직에서 MDA 발현 정도를 측정하여 간 세포내의 사립체의 손상 정도를 알아 보며, 쥐의 간 조직내 survivin을 측정하여 간 세포의 anti-apoptosis 정도를 측정하여 간의 IR 손상에 IPC의 유용성을 알아 보고자 하였다.

재료 및 방법: 24마리의 건강한 남성 쥐 Sham군은 control group으로 현 상태에서 2시간 동안 어떤 조작도 가하지 않았다. IR 군은 허혈성 재관류(ischemic reperfusion) 군으로 좌측 간동맥과 좌측 간문맥을 노출 시켜 수술용 겸자로 조여 간의 좌측엽의 허혈 유발 하였다. 허혈은 60분간 시행하며, 이후 수술용 겸자를 푼 후 120분간 재관류를 시행하였다. IPC군은 허혈성 후처치 군으로 좌측 간동맥과 좌측 간문맥을 노출 시켜 수술용 겸자로 조여 간의 좌측엽의 허혈 유발 한 후, 허혈을 60분간 시행하였으며 이후 2분간, 3분간, 5분간, 7분간 짧은 재관류를 시행 하며, 매 재관류 시간 사이에 2분간 재차 수술용 겸자로 좌측 간동맥과 좌측 간문맥의 조임을 시행하였다. 그리고 마지막 재관류 후 95분간은 지속적인 재관류를 유지하였다. 채취된 쥐의 혈액은 ALT, AST를 측정한다. 채취된 쥐의 간 조직에서 malondialdehyde (MDA) 및 survivin 단백질의 추출과 western blot analysis에 사용되었다. 모든 연구 결과는 means±S.E.M.를 측정 하였으며, 데이터의 유의성은 one-way analysis of variance (ANOVA)를 이용하였고, 그룹간의 유의한 차이는 $p < 0.05$ 일 경우로 하였다

결과: 24마리의 실험 쥐 중 IR군에서 1마리 그리고 IPC군에서 2마리가 마취 과정에서 경련 및 사망하여 실험 군에서 제외 하였다. 그 결과 Sham군 8마리, IR군 7마리 그리고 IPC군 6마리에서 실험 결과를 얻을 수 있었다. 혈청 ALT 수치는 IR군에서 Sham군에 비해 통계학적으로 유의하게 높게 측정 되었으며($p=0.003$), IPC군에서도 높게 측정 되었으나 Sham군 그리고 IR군과 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($p=0.101$, $p=0.574$). 혈청 AST 수치 또한 IR군에서 Sham군에 비해 통계학적으로 유의하게 높게 측정 되었으며 ($P=0.001$), IPC군에서도 높게 측정 되었으나 Sham군 그리고 IR군과 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다 간 조직 내 MDA 측정 값은 재관류가 시행 된 후 인 IR군과 IPC군에서 높게 측정 되었으며 Sham군에 비해 통계학적으로 유의한 차이를 보였다($p=0.003$, $p=0.008$). 하지만, IPC7군과 IR군에서 MDA 측정 값은 두 군간의 통계학 적 유의한 차이를 보이지 않았다($p= 1.000$). 간 조직 내 survivin 측정 값은 IPC군에서 가장 높은 값을 보였으나, IR군에 비해 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($p=0.326$).

결론: 이번 실험을 통해, ischemic hepatocyte에서 reperfusion시 PC는 hepatocellular membrane 구조를 보존하는 protective 효과는 있으나, mitochondria에서 일어나는 lipid peroxidation 과정을 억제 하는데 도움을 주지 못하며, 비록 PC가 lipid peroxidation 과정을 억제 하지는 못하나, ischemic hepatocyte을 재생 하는데 도움을 줄 수 있음을 알 수 있다. 결론적으로, IPC는 허혈성 간 세포의 apoptosis를 억제하고 간 조직내 ischemic reperfusion injury를 줄일 수 있을 것으로 사료된다.