

抗癌劑 Incubation에 家兔同種皮膚移植에 미치는 影響*

The Effect of Incubation with Chemotherapeutic Agents on Rabbit Skin Allograft Survival

서울대학교 醫科大學 附屬病院 成形外科

金 晋 煥

數種의 動物에 있어서 同種皮膚移植後 移植片의 生着期間을 延長시키기 爲한 많은 研究가 發表되고 있다. 이러한 일련의 實驗들은 Billingham(1951)에 의하여 처음으로 試圖되었으며 그는 家兔에서 cortisone acetate를 全身의으로 注射하여 移植片의 生着期間을 두배로 延長시킬 수 있었고 이어 Woodruff(1956)는 家兔에서 同種皮膚移植後 스테로이드製劑를 移植片에 直接 塗布하여 移植片의 生着期間을 延長시킬 수 있었음을 報告한 바 있다. 그러나 全身의 投與方法은 recipient에서 血管新生이나 創傷治癒에 좋지 않은 影響을 미치기도 하고 때로는 死亡하는 경우도 있다. 이와 反對로 局所塗布方法은 recipient에는 害를 덜 주게 되나 移植片의 生着延長에는 큰 도움을 주지 못하는 것으로 알려져 있다. Klaue(1971, 1972)는 家兔에서 recipient에는 別支障을 주지 않도록 皮膚移植片을 Triamcinolone Acetonide에 一定期間 incubation 後 移植함으로써 同種移植後 그 生着期間을 3배가량 延長시킬 수 있었음을 報告한 바 있다. 家兔뿐만 아니라 Boss(1973)는 白鼠에서도 이와같은 方法으로 그 生着期間이 延長됨을 보았다. 同種皮膚移植後 그 生着期間을 延長시키기 爲하여 비단 Triamcinolone Acetonide 뿐만이 아니라 Bonmasser(1966)는 rat에서 移植片을 Urethan에 incubation 後 移植함으로써 또 Cole이나 Davis(1962)는 移植片을 移植前에 放射線照射시키므로서 生着期間이 延長됨을 報告한 바 있다.

Hellmann(1965)은 recipient에 少量의 Thalidomide를 腹腔內注射함으로써 移植片의 生着期間이 延長됨을

證明하고 Thalidomide亦是 一種의 免疫抑制의 性質 때문에 이러한 結果를 얻을 수 있었다고 結論지었다. 그 외 1960年 Meeker는 6-Mercaptopurine을 使用하여, 1963年 Medawar는 Methotrexate 大量投與로서 같은 結果를 얻을 수 있었다. 그러나 이와같은 實驗들은 抗癌劑를 全身의으로 投與하였고 이때 移植片의 生着延長은 단지 그 量에 있어서 toxic dose에서만 可能하였기에 recipient에게는 移植片의 生着보다는 個體의 危險性이 커서 實際로는 利用하기 어려운 問題가 있다. 따라서 本實驗은 위와 같은 immunosuppressive drug를 全身의으로 使用치 않고 同種皮膚移植片을 移植前에 一定期間 抗癌劑에 incubation 後 使用하여 그 生着期間의 變化를 보코자 함이었다.

方法 및 材料

實驗에 使用된 家兔는 平均體重 3.0 kg의 白色家兔로서 性別의 差異없이 사육장에서 比較的 均等한 사료로서 사육된 家兔 20匹을 10匹씩 相對로 하여 各各 腹部에서 皮膚全層을 直徑 2cm의 圓形으로 切除後 이를 相對方의 腹部에 移植하였다. 即 家兔는 腹部를 깨끗이 脫毛後 phisohex로서 鬚은 後 Pentothal sodium을 靜注하여 全身麻酔後 直徑 2cm의 圓形을 methylene blue로 表示하고 이 線에 따라 皮膚全層을 切除後 移植片을 各各 下記와 같은 溶液에 60分間 室溫에서 incubation 後 다시 生理食鹽水에 씻어 各各 相對家兔의 腹部에 移植하였다. 實驗群은 4群으로 나누어 1群은 5-Fluoruracil 50mg/cc 溶液에, 2群은 Endoxan 40mg./cc. 溶液에, 3群은 Cyclocide 40mg./cc. 溶液에, 4群은 對照群으로서 生理食鹽水에 各各 incubation하였다. 移植片은 recipient bed의 철저한 止血 後 圓주위를 따라 約 7~8個의 6-0 silk 봉합사로 단절봉합後 腹部는 gauze로 덮고 붕대를 감어두었다. 傷處는 術後 第5일부터 開放하

* 本論文은 第9次 大韓成形外科學會學術大會에서 發表하였음.

* 本論文은 1976年度 서울대학교醫科大學附屬病院 臨床研究費의 補助를 받은 것임.
(1976年 11月 24日 接受)

여 每日 一定時間에 觀察하였으며 抗生劑는 使用치 않았。 移植片의 生着與否는 移植片의 색깔, bed에 단 단히 붙어있는가 或은 주변을 forcep으로 들어 出血有 無를 確認하여 出血이 되는 것은 生着이 된 것으로 判斷하였다。 그러나 일단 生着된 移植片이 다시 pale해 지거나 黑色으로 變化되어 壞死에 빠지면 拒否現象으로 判斷하였다。

結 果

下記表에서 보는 바와같이 移植한 各 20例中 判斷이 可能하였던 例는 第1群에서 18例, 第2群에서 17例, 第3群에서 18例, 第4群에서 18例로서 移植片이 感染됐다가 dry crust로 變化된 것은 判斷에서 除外하였다。

Table 1. Result of Allograft Survival after Incubation with Chemotherapeutic Agents

Chemotherapeutic Agents	Mean Slough Time (days)	Range (days)	Total No.	
			Survival No.	
5-Fluorouracil	18.8	16-21	20	18
Endoxan	17	15-18	20	17
Cyclocide	17	15-18	20	18
Normal Saline	14.6	13-17	20	18

第1群, 5-Fluorouracil로 處理한 移植片 :
20例中 18例가 判斷이 可能하였고 移植片은 16日부 터 21日까지 生着되고 있었으며 平均生存日은 18.8日 이었다。

第2群, Endoxan으로 處理한 移植片 :
20例中 17例에서 判斷이 可能하였고 移植片은 15日 부터 18日까지 生着되고 있었으며 平均 生存日은 17日 이었다。

第3群, Cyclocide로 處理한 移植片 :
20例中 18例에서 判斷이 可能하였고 移植片은 15日 부터 18日까지 生着되고 있었으며 平均 生存日은 17日 이었다。

第4群, 生理食鹽水로 處理한 移植片 :
20例中 18例에서 判斷이 可能하였고 移植片은 13日 부터 17日까지 生着되고 있었고 平均 生存日은 14.6日 이었다。

本 實驗에서 實驗藥劑로 인한 移植片의 直接的인 組織損傷은 없었으며 이는 incubation 直後 實施한 組織

檢査나 或은 移植後 肉眼的인 觀察에 依하여도 確認되 었다。

移植片은 手術後 數時間後로부터 그 색깔이 점차 분 홍색을 띄우고 血管增殖을 일으켜 約 96時間後로부터 는 선홍색으로 變하고 점차로 그 주변부가 recipient 와 epithelization을 일으켜 융합하게 된다。 對照群에 있어서는 移植後 約 10日부 터 점차 移植片의 주변부가 recipient로부터 벌어지고 移植片의 색깔이 쇠퇴하여지 며 쉽사리 脫落되거나 또는 黑赤色으로 壞死에 빠지게 됨을 볼 수 있었다。 實驗群에 있어서는 이와같은 拒否 反應이 數日間 지연되어 나타나는데 表에서 보는 바와 같이 抗癌劑로 處理한 實驗群에서는 藥劑가 Antimetabolite이건 Alkylating agent이건間에 큰 差異를 볼 수 없 이 이러한 變化가 15~16日에 나타남을 볼 수 있었 다。 비록 實驗群과 對照群間의 큰 差異는 볼 수 없었

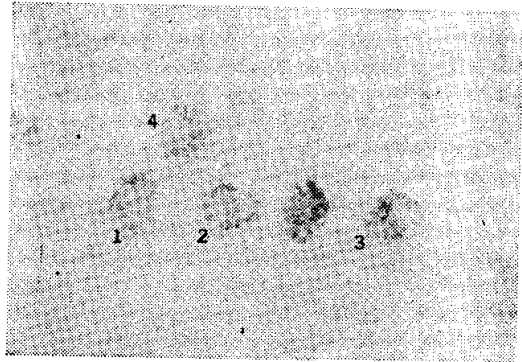


Fig. 1. Post-op. 5th days after graft. (1) 5-FU treated graft. (2) Endoxan treated graft. (3) Cyclocide treated graft. (4) Saline treated graft.

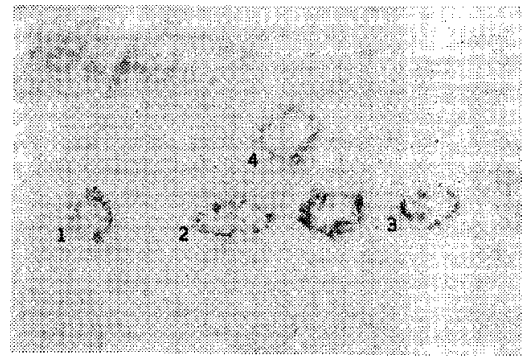


Fig. 2. Post-op. 7th days after graft. (1) 5-FU treated graft. (2) Endoxan treated graft. (3) Cyclocide treated graft. (4) Saline treated graft.

으나 immunosuppressive action으로 인한 拒否現象의 抑制가 數日間 더 지연됨을 알 수 있었다. (사진 1, 2, 3, 4 참조)

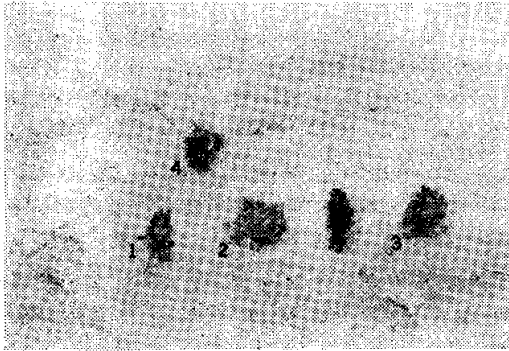


Fig. 3. Post-op. 10th days after graft.
(1) 5-FU treated graft. (2) Endoxan treated graft. (3) Cylocide treated graft. (4) Saline treated graft. In this graft, rejection phenomenon is under way as seen by black and reddish discoloration.

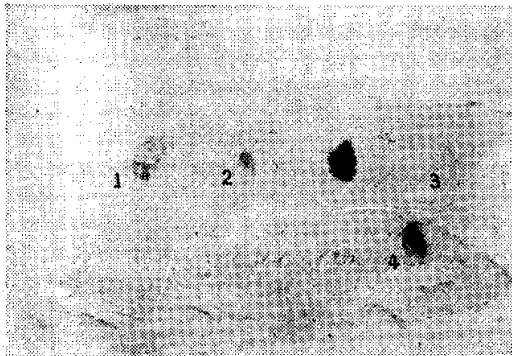


Fig. 4. Post-op. 15th days after graft
(1) 5-FU treated graft. (2) Endoxan treated graft. (3) Cylocide treated graft. (4) Saline treated graft. Saline treated graft shows sloughing and necrosis, but the others (1, 2, 3) are still surviving.

總 括

위와같은 實驗成績은 抗癌劑를 이용한 移植片의 incubation이 家兔의 同種皮膚移植에 있어서 그 生着期間이 對照群보다 數日間 延長됨을 알 수 있었다.

動物에서 同種皮膚移植後 그 生着期間을 延長시키기 위한 方法은 이미 여러가지가 發表되어 있으며 이러한 試圖를 처음으로 한 것은 Billingham (1951), Woodruff

& Llaurodo (1956) 등이었다. Billingham은 移植後 每日 corticosteroids를 全身의으로 投與하여 移植片의 生着期間이 延長됨을 보았고 그後 Woodruff (1956)는 移植後 移植片에 直接 corticosteroids를 塗布하여 相當한 生着期間이 延長됨을 알 수 있었다. Klaue (1971, 1972)는 同種皮膚移植前에 移植片을 corticosteroids에 incubation하여 그 生着期間을 約 3倍로 延長시킬 수 있었음을 報告하고 이러한 作用機轉은 대체로 histocyte와 macrophage 등에 依한 antigen 生成阻害, 移植片內에서의 lymphocytolysis, 補體生成의 inhibition, non-specific anti-inflammatory effect 등에 依한 것이라고 推測한 바 있고 그 生着期間을 左右하는 條件으로서는 1) 移植片의 藥劑吸收量 2) 移植片에서 藥劑의 代謝 및 排泄의 期間 3) 藥劑의 immunosuppressive potency 등이 關係된다고 結論지운 바 있다. Graff (1973)는 그後 위와같은 結果는 動物에 따라 各各 種의 特異성이 있음을 強調하였다.

Hellmann (1965)은 同種皮膚移植後 이의 延長을爲한 手段으로 白鼠에서 Thalidomide를 recipient의 腹腔內注射하여 對照群에서 12日間밖에 生着되지 않던 것이 藥의 投與量에 不拘하고 數日間이나 더 拒否現象이 지연됨을 報告하고 가장 좋은 結果는 donor나 recipient를 모두 移植前數日間 移植後數日間 藥을 投與함으로써 얻을 수 있다는 報告를 한 바 있다.

Bonmasser (1966)는 Rat에서 Urethan으로 移植片을 前處置하여 生着이 延長됨을 報告한 바 있는데 그는 Chemical antigenic deletion으로도 同種移植에 對한 拒否反應을 減退시킬 수 있는 可能性을 示顯하였다. Meeker (1960)는 다시 6-Mercaptopurine을 使用하여 위와같은 生着延長을 試圖한 바 있는데 그는 6-MP의 immunosuppressive effect를 利用하여 homograft rejection mechanism의 低下를 招來할 수 있었고 이때 藥劑의 投與量과 投與時機가 生着延長에 重要な 要素가 되며 이때의 作用機轉은 6-MP가 recipient에서 異種組織에 對한 免疫反應에 긴요한 代謝過程의 inhibition에 起因하는 것이라고 규명한다.

抗癌劑의 作用機轉은 이미 널리 알려진 바와 같이 alkylating agent인 Endoxan은 주로 cytotoxic effect로서 作用하며 antimetabolite인 5-Fluorouracil이나 Cylocide는 DNA 合成阻害作用에 依한 것으로 皮膚同種移植에 있어서 生着의 延長을 招來하는 作用機轉으로서는 주로 1) 同種移植拒否反應過程에서 直接的으로 이의 代謝障害를 일으키거나 2) Cytotoxic action에 依한 間接 效果가 아닌가 한다. 그러나 아직도 移植前處置가 生

着을 延長시키는 直接的인 作用機轉은 分明히 밝혀지 지 않고 있으며 其他 代謝拮抗劑는 代謝物質의 合成을 阻害한다든지 어는것은 Carbohydrate metabolism에 관 여하는 enzyme의 阻害等도 論議되고 있다.

위와같은 諸實驗은 結局 immunosuppressive potency 가 있는 藥劑는 程度의 差는 있으나 모두 同種皮膚移 植後 生着의 延長을 招來할 수 있고 단지 거기에는 種 의 特異性이 있고 投與量, 投與方法 및 投與時機에 따 라 生着期間에 差異가 있음을 보여주고 있다.

結 論

家兎의 同種皮膚移植에 있어서 抗癌劑에 60分間 incubation 後 移植한 皮膚片은 生理食鹽水를 使用한 對照 群보다 平均 約 2~3日間 그 生着期間을 延長시킬 수 있었으며 作用機轉은 抗體生成이나 淋巴組織抑制機構 를 除外한 모든 免疫反應抑制現象에 依한 것이라고 思 慮된다.

—ABSTRACT—

The Effect of Incubation with Chemotherapeutic Agents on Rabbit Skin Allograft Survival

Chin Whan Kim, M.D.

Dept. of Reconst. Plastic Surgery, Seoul National University Hospital

An appealing method to lower the risk of systemic immunosuppression is local treatment of the allograft. Billingham and colleagues reported in 1951 the first time that topically applied cortisone acetate doubled the survival of rabbit skin allografts. Woodruff and Llaurodo confirmed these findings with local 9- α -fluoro-cortisol acetate in the same type of experiment. Since then a variety of chemical agents, such as Triamcinolone Acetonide, Thalidomide, Urethan and chemotherapeutic agents have been utilized to prolong the allograft survival.

However, in those studies, systemic dose of drugs either adversely affected graft vascularization and healing or were toxic or even lethal to the recipient. The author conducted analogous experiment using

rabbit skin grafts incubated in 5-fluorouracil, Endoxan and Cyclocide to elucidate the effectiveness.

The rabbit skin grafted by the technique described by Billingham using 20mm diameter, belly skin grafts from adult donors. These were incubated in 5-FU solution 50mg/cc, in Endoxan 40mg/cc, in Cyclocide 40mg/cc respectively and in normal saline solution for control group for 60 minutes at room temperature and were rinsed in saline and then grafted immediately. There were considerable prolongation of allograft survival achieved by pretreatment with agents such as 5-FU, Endoxan and Cyclocide compare to those of control group which was treated with only normal saline solution.

REFERENCES

- Billingham, R. E. et al: *Effect of Locally Applied Cortisone Acetate on Survival of Skin Homograft in Rabbits*, *Brit. Med. J.* 2 : 1049.
- Bonmasser, E. et al: *Chemical Deletion of Histocompatibility Antigens-Homograft Survival of Rat Skin Treated with "Urethan" in Vitro*, *Nature* 209 : 1141, 1966.
- Boss, P. S.: *Mechanism of Action of Topically Applied Triamcinolone Acetonide in Prolonging Skin Allograft Survival Time, Transplantation*, 15 : 17, 1973.
- Cole, L.J. and Davis, W. E.: *Homograft Reaction in Mice: Effect of Urethane and Sublethal X-radiation*, *Science*, 135 : 792, 1962.
- Graff, W.T. et al: *The Effect of Incubation in Vitro with Triamcinolone Acetonide on Murine Heart and Skin Allograft Survival. Transplantation Vol. 16, No. 4, 1973.*
- Hellman, K. et al: *Prolongation of Skin Homograft Survival by Thalidomide. Brit. Med. J.*, 2 : 687, 1965.
- Klaue, P. et al: *The Comparative Effectiveness of Corticosteroids applied topically as Pretreatment of Rabbit Skin Allografts, Surgery*, 70 : 718, 1971.
- Klaude, P. et al: *Prolonged Survival of Rabbit Skin Allografts after Treatment with locally applied Triamcinolone Acetonide with small doses of Systemic*

- Immunosuppressives, Transplantation*, 13 : 53, 1972.
- Meeker, W.R. et al: *Alteration of the Homograft Response by Antimetabolites*, *Ann. New York Academy of Science*, 87 : 203.
- Medawar, P. B.: *Cited from Hellman, K.*
- Woodruff, M.F. et al: *The Effect of Systemic Administration of Fluoro and Choloro-cortisol and Prednisone, and Local Application of Fluoro-cortisol on Skin Homograft in Rabbits*, *Plast. Reconstr. Surg.*, 18 : 251, 1956.