

양의 태아를 이용한 횡격막탈장의 실험(제 1부)

연세대학교 의과대학 외과학교실, ¹산부인과학교실, ²병리학교실, ³임상의학연구소 연구센터 실험동물부

한석주 · 한애리 · 박용원¹ · 신동환² · 김봉경³ · 양인숙³ · 황의호

Experimental Congenital Diaphragmatic Hernia in a Fetal Lamb Model (I)

Seok Joo Han, M.D., Airi Han, M.D., Yong-Won Park, M.D.¹, Dong-hwan Shin, M.D.², Bong Kyeong Kim³, In Sook Yang³, and Eui Ho Hwang, M.D.

Purpose: The purpose of this study was to construct a fetal animal model of congenital diaphragmatic hernia in a lamb under domestic environments.

Methods: Left-sided diaphragmatic hernias were created in seven fetal lambs at about 85 days' gestation (experimental group). Three other fetal lambs did not receive any surgical procedure and served as control group. Four of these lambs (3 in the experimental group and 1 in the control group) were delivered after a sufficient intrauterine period. The morphological changes of lung development were compared between the two groups.

Results: Creation of diaphragmatic hernia resulted in marked hypoplasia in fetal lung development. In this experiment, the maternal mortality was 33.3%, and the fetal mortality was 60% which are relatively high as compared with previous reports.

Conclusion: From this data, the authors concluded that experimental fetal diaphragmatic hernia can be established although the technique for the measurement of gestational age, anesthesia and postoperative care should be improved to overcome domestic inexperience in using the lamb as an experimental animal. (*J Korean Surg Soc* 2001;61:229-236)

Key Words: Fetal surgery, Congenital diaphragmatic hernia, Animal model

중심 단어: 태아수술, 선천성 횡격막탈장, 동물모델

Departments of Surgery, ¹Obstetrics and Gynecology, ²Pathology and ³Laboratory Animal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

서 론

태아의 구조적 기형을 진단하는 방법은 산전초음파와 태아 자기공명영상술(fetal magnetic resonance imaging)의 발전에 힘입어 비약적으로 발전하여 왔다. 이러한 산전 진단기술의 발달로 우리는 태아의 구조적 결함에 대한 병태 생리에 관심이 커지게 되었으며 이에 관련된 지식도 넓어진 것이 사실이다. 이로 인하여 많은 선천성 기형을 가진 태아와 산모가 적절한 치료가 가능한 의료시설로 후송되어 전문 의료인의 상담을 받고 출생하여 최상의 조건에서 치료를 받음으로써 신생아의 선천성 질환에 대한 치료성적이 과거보다 월등히 향상되었다.(1) 그러나 선천성 횡격막탈장 같은 일부 선천성 질환은 출생 후 최상의 치료에도 불구하고 아직도 높은 사망률을 보이고 있다. 그 이유는 태아시기에 횡격막탈장으로 인하여 이미 생긴 심한 폐형성부전(pulmonary hypoplasia)과 폐고혈압증(pulmonary hypertension)으로 출생 후 횡격막탈장을 교정하고 최선의 치료를 하더라도 사망률을 감소시킬 수 없기 때문이다.(2)

이런 문제를 자궁 내에서 해결하고자 하는 아이디어로 연구가 시작된 분야가 바로 태아수술이다. 과거 약 20년간의 선진국의 실패와 성공을 거듭한 연구와 임상시도를 통하여 현재는 횡격막탈장 같은 일부 선천성 기형에서 태아수술이 성공적으로 시행되고 있으며 현재 그 결과도 괄목하게 향상되었다. 이제는 국내에서도 엄격한 기준 하에 선택된 횡격막탈장에서도 태아수술이 시행되어야 할 단계라고 생각한다.(1)

양의 태아를 이용하여 횡격막탈장을 만드는 실험은 이

책임저자 : 황의호, 서울시 서대문구 신촌동 132번지
☎ 120-752, 연세대의 외과학교실
Tel: 02-361-5544, Fax: 02-313-8289
E-mail: ehhwang@yumc.yonsei.ac.kr

접수일 : 2001년 9월 6일, 게재승인일 : 2001년 9월 18일
본 논문의 요지는 대한소아외과학회 2001년 춘계학술대회(2001년 6월 8-9일, 서울)에서 구연되었음.
이 논문은 연세대학교 의과대학 2000년도 교수연구비(과제번호: 2000-3호) 및 학장지정 연구비(과제번호: 2000-3호)에 의하여 이루어졌음.

미 1967년에 보고되기 시작하였으며(3) 이후 많은 연구가 양을 이용하여 시행됨으로서(4-12) 현재의 인간 횡격막탈장의 태아수술의 이론적 근거가 되었다.(13) 횡격막탈장에 대한 인간 태아수술을 국내에 도입하려면 양과 같은 대동물을 이용한 동물모델이 필요하다. 이에 본 연구자 등은 본 실험을 통하여 양을 이용한 선천성 횡격막탈장의 국내 모델을 개발하고 이를 향후 유관 실험의 발판으로 삼으며 동물을 통하여 태아수술의 구체적 술기를 직접 경험하고 문제점을 파악하여 개선함으로써 선천성 횡격막탈장에 대한 국내 임상 태아수술의 기틀을 마련하고자 본 연구를 시행하였다.

방 법

1) 연구 대상

본 실험의 대상으로는 코리데일(Corriedale)종의 양을 이용하였다(중앙실험동물, 서울시 서초구 우면동).

2) 방법

(1) 임신여부 확인 및 임신연령의 측정: 양의 임신 여부를 확인하는 방법으로 모체의 혈청 프로게스테론(progesterone)을 측정하여 황체에 접어들었다고 판단되는 모체만을 임신한 양으로 간주하였다.

혈청 프로게스테론 측정으로 임신이 확인된 양에게 초음파를 시행하여 임신 여부를 최종 확인하였다. 임신연령의 측정은 태아의 정미장(頂尾長, crown-rump length)을 초음파로 측정한 후 이를 태아연령으로 환산하는 방법을 사용하였다(24시 열린 동물병원, 서울시 강남구 역삼동).(14) 코리데일종의 정상 임신기간은 평균 147일이다.

(2) 동물의 순응 및 관리: 실험양을 실험실 사육 환경에 순응시키기 위하여 계획된 수술 약 1주일 전에 농장으로 부터 실험동물 사육시설로 이송하여 사육하였다. 동물의 관리 및 실험은 연세대학교 임상의학연구센터 실험동물부에서 규정한 "실험동물 관리 및 동물실험 시행지침"에 따라 시행되었다.

(3) 마취 전 처치 및 마취: 초음파 추정 임신기간 80일에서 90일이 되는 날 마취를 하고 태아수술을 시행하였다. 실험양은 마취 48시간 전부터 금식시켰다. 마취 전 약물처치는 atropine (0.05 mg/Kg, IM)과 chlorpromazine (2 mg/Kg, IM)으로 하였다. 마취 유도는 ketamine (15 mg/Kg)을 근주하여 양을 진정시키고 앞다리의 두정맥(cephalic vein)에 20 G. 정맥관을 삽관하여 정맥로를 확보하고 수액은 Ringer's lactate solution을 사용하였다. 정맥로가 확보되면 ceforanide (보령제약, 10 mg/Kg)을 정주하였다. 100% 산소와 1.5~2.1% enflurane으로 마스크 환기를 시키면서 내경 9.0 mm의 도관으로 기관삽관을 시행하고 산소와 enflurane을 이용하여 흡입마취를 유지하였다. 마취 중에는

모체의 활력증후, 심전도, 그리고 산소포화도를 계속 측정하였다. 태아에게는 특별한 마취를 위한 조작이 시행하지 않았으나 태아의 심박동수와 산소포화도는 마취 중 측정하였다.

(4) 자궁의 노출: 모체의 복벽 중앙에 위치한 중앙정맥(central vein)을 다치지 않게 조심하면서 정중앙 개복술을 시행한 다음 자궁을 복강 외로 노출시켰다.

(5) 자궁절개술 및 태아의 노출: 자궁을 촉진하여 태아의 수와 위치를 확인하였다. 태반의 위치는 육안과 촉진으로 쉽게 확인이 가능하였다. 태반을 피하여 태아의 좌측 흉곽이 위치한 부위에 자궁절개를 할 부위의 양측으로 두 개의 stay sutures를 시행하고 이를 통하여 자궁벽을 거상한 상태에서 자궁절개를 약 1 cm 넣었다. 이 절개 부위를 통하여 GIA stapler (Auto Suture, USA)로 자궁절개를 필요한 만큼 연장하였다. 태아의 좌측 앞다리와 흉부만을 자궁외로 노출시켰다. 이때 양수의 손실을 최소화하기 위하여 수술 보조자가 태아를 자궁절개부위로 밀착시킨 상태에서 수술을 진행하였다. 노출된 태아 및 자궁은 건조되지 않도록 따뜻한 생리식염수(37.5°C)를 계속 뿌려주었다.

(6) 횡격막탈장 형성방법: 태아의 좌측 제 7~9늑간을 통하여 흉부절개술을 시행하여 폐를 노출시켰다. 노출된 폐를 견인하여 횡격막을 노출시켰다. 횡격막 표면에 존재하는 혈관을 전기소작 한 후 횡격막의 근막부를 십자절개 혹은 일자절개 하였다. 복강내에 위치한 위와 소장은 횡격막 절개부를 통하여 흉강내로 탈장시킴으로서 인위적으로 횡격막탈장을 만들었다. 흉부절개부는 4-0 Vicryl을 이용하여 층층 봉합하였다. 무작위로 일부 태아에서는 횡격막탈장을 만들지 않고 자궁절개술만을 시행하였다.

(7) 양수의 보충 및 자궁절개부와 개복부의 봉합: 손실된 양수는 37.5°C의 항생제를 첨가한 Ringer's lactate 용액(ceforanide; 1 g/1,000 ml)으로 보충하였다. 자궁절개부는 TA-90 Stapler (Auto Suture, USA)를 이용하여 봉합하였다. 모체의 개복부는 3-0 Vicryl을 이용하여 층층 봉합하였다.

(8) 수술 후의 관리 및 초음파 검사: 수술 후 3일은 다른 양과 분리하여 사육하면서 정맥로를 통하여 수액과 ceforanide (30 mg/Kg/day)을 정주하였다. 먹는 사료의 양이 충분하게 되면 수액의 공급을 중지하였다. 수술 제 2일과 제 5일에 초음파 검사를 하여 태아의 생존 여부 및 횡격막탈장 형성 여부를 확인하였다. 이상이 없다고 판단되는 실험양은 수술 제 10일에 농장으로 이송하여 사육하였다. 농장에서 사육 중 이상이 있다고 판단되는 경우에는 실험동물 사육시설로 다시 이송하여 수의사의 관리하에 집중 관찰하면서 사육하였다. 임신은 가능한 말기까지 유지시키려고 하였다. 모체 및 태아의 상태가 악화된다고 판단되는 경우에는 응급으로 제왕절개를 시행하였다. 조산을 하거나 사산을 한 경우 태아가 생존하여 있거나 발견되기

바로 전에 사망하였다고 판단되는 경우에는 태아를 부검하고 폐조직을 얻었다.

(9) 분만된 태아의 부검 및 폐의 조직학적 검사: 분만된 태아는 즉시 체중을 측정 후 부검과 폐의 조직학적 검사를 시행하였다. 그 방법은 다음과 같다.

① 태아의 경부, 흉부 그리고 복부를 정중양절개하여 횡격막탈장이 형성됐는지 여부와 탈장된 복부 장기를 관찰하였다.

② 폐, 기관지, 기도를 한 덩어리로 제거하여 무게를 측정하고 기도삽관을 시행한 후 10% 포르말린에 고정하였다.

③ 고정된 폐를 파라핀에 봉매한 후 2 μ m 두께로 잘라 hematoxylin-eosin 염색 및 elastin 염색을 한 후 광학 현미경으로 관찰하였다.

결 과

1) 모체 및 태아의 수 및 임신기간(Table 1)

총 6마리의 임신된 실험양이 본 실험의 대상이 되었다. 이 중 4마리는 각각 2마리씩의 태아를 임신하고 있었으며 나머지 2마리는 1마리의 태아만을 임신하고 있어서 모두 10마리의 태아가 본 실험의 대상이 되었다. 횡격막탈장을 만든 태아는 모두 7마리였으며(실험군) 횡격막탈장을 만들지 않은 태아는 3마리였다(대조군). 실험군에서 태아수술을 할 때의 임신기간은 85.3 \pm 3.6일이었으며 대조군은 85.0 \pm 5.6일로 두 군간에 통계학적 차이는 없었다.

2) 태아 수술 후의 태아 초음파 소견

수술 후 시행한 초음파상 횡격막 결손을 만든 실험군의 태아 7마리 모두에서는 복강내 장기가 흉강으로 탈장되어 있음이 확인되었다(Fig. 1).

3) 태아수술 후의 경과(Table 1)

모체번호 1번의 양은 태아수술 후 제 19일에 농장에서 사육 중 사망하였으며 그 원인은 알 수 없었다. 따라서 이 실험양의 태아는 실험결과에 포함되지 않았다. 모체번호 2번의 양은 태아수술 후 제 17일부터 조기 자궁수축이 온 것으로 추정되어 자궁이완제를 투여하면서 분만을 지연시켰으나 모체와 태아의 상태가 나빠진다고 판단하여 응급으로 제왕절개를 시행하여 두 마리의 태아를 얻을 수 있었다. 이들은 본 실험 결과에 포함되었다. 실험번호 3번은 본 실험에서 처음 마취를 시행하였던 양이다. 이 양은 마취유도 중 심한 구토를 하였으며 마취에서 깨어나지 못하고 사망하였다. 이 양의 부검에서 대량의 사료가 폐로 흡입된 사실을 확인할 수 있어서 이로 인한 저산소증으로

Fig. 1. Intrauterine ultrasonography taken at postoperative 5 days after creation of left diaphragmatic defect shows the herniation of bowels (arrow) into thoracic cavity. Arrowheads: diaphragm.

Table 1. The final result after the fetal surgery for congenital diaphragmatic hernia

Mother No.	Fetus No.	Fetal surgery (gestational age)	Final outcome (gestational age)
1	1	Control (80 days)	Died of unknown origin at farm (99 days)
	2	CDH (80 days)	
2	3	CDH (91 days)	Cesarean section due to premature labor and fetal distress (122 days)
	4	Control (91 days)	
3	5	CDH (84 days)	Died of aspiration during induction of anesthesia (84 days)
	6	Control (84 days)	
4	7	CDH (87 days)	Intrauterine fetal death (89 days)
	8	CDH (87 days)	
5	9	CDH (86 days)	Stillborn (105 days)
6	10	CDH (82 days)	Premature abortion (110 days)

CDH = congenital diaphragmatic hernia.

사망하였다고 판단되었다. 이 모체의 2마리의 태아는 본 실험결과에 포함되지 않았다. 모체번호 4의 양은 태아수술 후 제 2일에 시행한 초음파상 두 마리의 태아가 모두 자궁 내에서 사망하였음이 확인되어 모체를 희생시켰으며 이 모체에서 얻은 2마리의 태아는 이미 미이라화(mummify) 되어 있어서 본 실험결과에 포함시키지 않았다. 5번과 6번의 모체는 임신 제 105일과 임신 110일에 사산과 조기 분만을 하였으며 이들 태아는 본 연구의 결과에 포함하였다. 따라서 본 실험에서 태아수술로 인한 모체의 사망률은 6마리의 모체 중 2마리가 사망하여(마취사고로 인한 사망 1마리, 농장에서 원인불명으로 죽은 1마리) 33.3%이며 태아 사망률은 10마리의 태아 중 6마리가 사망하여(모체사망으로 인한 태아 사망 4마리, 자궁내 태아사망 2마리) 60%이다.

4) 분만된 태아의 부검소견

본 실험의 최종결과에 포함될 수 있었던 태아는 4마리(태아번호 3, 4, 9, 10)였다. 이들에게서 부검을 시행하였으며 그 결과는 Table 2와 같다. 실험군 3에 모두에서 횡격막 결손을 통하여 복강내 장기가 흉강으로 탈장되어 있었다. 대조군에서는 정상 소견을 보였다. 실험군에서는 횡격막탈장이 형성된 좌측 폐의 크기가 우측 폐에 비교하여 육안상 작았으며 종격동이 우측으로 이동하여 있었다(Fig. 2).

5) 체중에 대한 폐 무게의 비교(total lung weight/total body weight; TLW/TBW, Table 2)

대조군의 TLW/TBW은 4.6%이며 실험군의 TLW/TBW은 $2.2 \pm 0.26\%$ 이어서 실험군의 폐의 무게가 상대적으로 대조군보다 작음을 알 수 있었다. 통계학적 처리는 대조군이 단일 값이라서 할 수 없었다.

6) 좌우 폐의 무게 비교(right lung weight/total lung weight; RLW/TLW, left lung weight/total lung weight; LLW/TLW, Table 2)

대조군의 경우 RLW/TLW이 57.1%이고 LLW/TLW이 42.9%이었다. 실험군에서는 RLW/TLW이 $68.4 \pm 7.2\%$, LLW/TLW이 $31.6 \pm 7.2\%$ 이었다. 이를 통하여 대조군보다 실험

군에서 좌측 폐의 무게가 우측 폐의 무게보다 더 작음을 알 수 있었다. 통계학적 처리는 대조군이 단일값이라서 할 수 없었다.

7) 폐의 조직학적 소견

(1) 정상 태아의 임신기간에 따른 폐의 조직학적 소견: 초음파로 추정된 임신 제 84일의 정상 태아(태아번호 6번)의 폐에서는 폐포를 피복하는 세포는 주로 입방형 상피세포로 구성되어 있었으며 폐포공간은 작고 폐포벽은 간질조직이 비교적 풍부하게 두꺼워져 있었으며 모세혈관이 이미 폐포 벽으로 들어와 있었으나 기관에는 점막하선(submucosal gland)이 발달되어 있지 않은 소견을 보였다 이는 양의 태아 폐의 발달 단계의 canalicular stage(15)로 판단되었다(Fig. 3-A).

초음파로 추정된 임신 제 112일의 정상 태아(태아번호 4번)의 폐에서 폐포를 피복하는 세포는 좀더 납작하여지고 폐포 수는 증가하고 폐포 벽은 간질조직이 없어지고 얇아

Fig. 2. The autopsy findings of the fetus with a left diaphragmatic hernia shows that the stomach and small bowels had herniated into the left chest, obscuring the heart and lungs (arrowheads) which were displaced to the right.

Table 2. The autopsy findings

Fetus No.	Fetal surgery	Autopsy	TBW (g)	TLW/TBW (%)	RLW/TLW (%)	LLW/TLW (%)
4	Control	No herniation	5680	4.6	57.1	42.9
3	CDH	Herniation (stomach, small bowel, colon)	2430	2.5	72.1	27.9
9	CDH	Herniation (stomach, small bowel, colon)	1800	2.0	60.1	39.9
10	CDH	Herniation (stomach, small bowel)	2030	2.1	73.0	27.0

TBW = total body weight; TLW = total lung weight; RLW = right lung weight; LLW = left lung weight.

Fig. 3. (A) Normal fetal lung (Fetus No. 6) at the gestational age of 84 days determined by US shows the canalicular stage of lung development in which the respiratory epithelial lining of the canals are consisted mostly of cuboidal cells with thick stromal tissue. The submucosal glands of terminal bronchiole are not observed (not seen in this picture)(H&E, $\times 400$). (B) Normal fetal lung (Fetus No. 4) at the gestational age of 112 days determined by US shows the alveolar stage of lung development in which large air spaces are lined with well-developed flat respiratory epithelium with thin stromal tissue. The well-developed submucosal glands are observed in bronchiole (not seen in this picture)(H&E, $\times 400$).

Fig. 4. The histologic findings of lung (H&E, $\times 40$) of Fetus No. 9 do not show any difference of lung development between right (A: the unaffected site) and left lung (B: the affected site) in which the duration of intrauterine diaphragmatic hernia was 19 days.

졌으며 모세혈관이 이미 폐포 벽에 잘 발달되어 있고 완벽한 기관이 형성되고 점막하선이 잘 발달되어 있어 완벽하게 성숙된 폐의 소견을 보였다. 이는 양의 폐의 발달단계의 alveolar stage(15)로 판단되었다(Fig. 3-B).

(2) 횡격막탈장을 만든 태아의 폐의 조직학적 소견의 비교: 횡격막탈장을 만든 상태로 임신이 19일간 지속되고 초음파 추정 임신 제 105일에 태어난 태아 9번의 폐는 임신 제 84일의 정상 태아의 폐(Fig 3-A)보다 폐포 공간의 크기가 뚜렷이 증가하고 폐포 벽이 얇아져 있어 좀더 성

숙한 폐의 모습을 보이고 있었다. 그러나 예상과는 달리 횡격막탈장을 만든 좌측 폐와 횡격막탈장을 만들지 않은 우측 폐 사이에는 폐의 성숙도에 있어서 커다란 차이점을 관찰할 수 없었다(Fig. 4). 횡격막탈장을 만든 상태로 임신이 28일간 지속되고 초음파 추정 임신 제 110일에 분만된 태아 10번의 폐는 횡격막탈장을 만든 좌측 폐가 횡격막탈장을 만들지 않은 우측 폐보다 폐포 공간이 작고 폐포 벽이 두꺼워진 좀 더 미성숙한 소견을 보였다(Fig. 5).

Fig. 5. The histologic findings of lung (H&E, $\times 40$) of Fetus No. 10 show definite difference of lung development between right (A: the unaffected site) and left lung (B: the affected site) in which the duration of intrauterine diaphragmatic hernia was 28 days. the affected lung (B) has smaller air spaces and thicker alveolar septum than the unaffected site (A).

고 찰

산전진단, 신생아학 그리고 소아외과의 발달에 힘입어 신생아기에 수술이 필요한 많은 선천성 기형의 치료 성적이 괄목하게 성장하였다. 그러나 아직도 해결되지 않은 선천성 기형중의 하나가 선천성 횡격막탈장이다. 선천성 횡격막탈장은 출생시점에 진단된 경우만을 살펴보면 약 60%의 환자만이 생존한다.(16) 그러나 산전초음파로 횡격막탈장이 진단된 환자를 포함 할 경우에는 최종적으로는 약 40%만의 환자가 생존한다. 그 이유는 임신 중 혹은 분만과정에서 사망하는 환자가 포함되기 때문이며 이를 “숨겨진 사망률(hidden mortality)”이라고 한다.(17)

선천성 횡격막탈장이 이렇게 높은 사망률을 가지는 이유는 장기의 발달과 발육이 왕성한 태아시기에 탈장된 복부장기로 인하여 폐의 발달과 발육이 방해를 받아서 생긴 폐형성부전 때문이다. 따라서 폐형성부전이 심한 경우는 출생 후 아무리 치료를 잘한다고 하여도 환자는 결국 사망하게된다. 이런 환자의 경우에는 태아시기에 문제를 외과적으로 교정하여 주는 것이 근본적이고 유일한 해결 방법일 수 있다. 이를 총괄하여 태아수술이라고 부른다. 태아수술의 여러 분야 중 가장 활발히 연구되고 임상 적용이 되고 있는 질병은 선천성 횡격막탈장이다.(1)

선천성 횡격막탈장에 대한 태아수술은 여러 동물실험에 의하여 그 가능성이 이미 입증되었다.(3-7) 그 후 인간의 횡격막탈장에서도 태아수술을 적용하여 왔으나 그 성적이 좋지 않다가 최근에는 일시적 기관 폐쇄법(temporary tracheal occlusion)을 태아내시경(Fetendo)을 이용하여 적용함으로써 그 치료성적이 괄목하게 향상되었으며 현재 활

발히 임상 적용되고 있는 실정이다.(8-11) 이에 본 연구자는 선천성 횡격막탈장에 대한 태아수술의 국내 도입의 필요성이 대두되고 있다고 생각한다.(1)

국내에서도 태아수술에 대한 연구 결과가 최근 보고되기 시작하였다.(18-22) 가토의 태아를 이용하여 횡격막탈장을 만드는 실험이 이미 보고되었으며(21) 쥐에 nitrofen을 투여하여 횡격막탈장을 유발시킨 보고도 있다.(22) 그러나 양과 같은 대동물을 이용한 횡격막탈장의 태아수술에 대한 실험은 아직 국내에서 보고된 적이 없다. 따라서 본 연구의 의미는 횡격막탈장에 대한 태아수술의 임상 적용을 하기 전에 반드시 국내에서 시행되어야 할 실험으로서의 의미가 크다고 하겠다.

태아수술에 대한 동물실험은 전통적으로 양을 이용하여 왔다. 그 이유는 양이 다른 종에 비하여 태아수술이 용이하며 태아수술 후에 조기유산이 적게 오기 때문이다. 본 연구자가 계획하였던 원래의 실험계획은 양의 태아에서 선천성 횡격막탈장을 만들고 임신을 지속하다가 임신 말기에 태아내시경을 이용하여 태아의 기관을 폐쇄하고 분만 예정일에 제왕절개를 통하여 태아를 분만하려고 하였다. 그러나 여러 가지 이유로 원래의 계획대로 본 실험이 진행되지는 못하였다. 그 이유를 본 연구자 나름대로 살펴보면 다음과 같다. 첫 번째 문제는 양의 마취에 대한 국내의 경험이 적었기 때문이다. 본 실험의 첫 번째 대상이었던 모체번호 3의 양은 마취 유도 중에 일어난 구토로 인한 흡입성 폐렴이 사망 원인이었기 모체의 부검에서 확인이 되었다. 양의 경우 반추류(反芻類, ruminantia, ruminant)이므로 마취에 있어서 특별한 주의가 요한다. 반추류의 경우에는 음식물이 위에 저장되어 있는 기간이 길므로 단위(單胃)동물보다 음식 기간이 길어야 한다. 또한 반추류

(ruminant)의 경우는 단위동물보다 기관의 자극에 대하여 민감하다. 특히 주의하여야 할 점은 제 1위(胃)의 내용물이 전신마취 중 역류할 가능성이 단위동물보다 높으며 따라서 흡입마취시에는 이에 대한 각별한 주의가 요한다. 제 1위의 내용물의 역류를 방지하기 위하여서는 최소한 흡입마취 24~36시간 전에 사료의 섭취를 중단하고 8~12시간 전에는 물의 섭취까지 중단하여야 한다. 마취시에는 기관삽관술이 필수적이며 필요시에는 제 1위에 삽관을 하여 위내용물을 흡입하여 구토를 방지할 필요성도 있다고 한다.(23) 그러나 본 실험을 시행하는 초기에는 양의 마취 및 취급에 대한 사전 지식의 부족과 경험의 부족으로 인하여 처음 마취를 시행하였던 3번 모체는 태아수술이 비록 성공적이었으나 사망하게 되었다. 그러나 이후의 양에서는 마취시의 주의 사항을 철저히 지킴으로서 성공적으로 실험을 진행할 수 있었다. 두 번째 문제는 본 실험에서 양의 임신기간의 측정이 정확하지 못하였을 가능성이 높다는 점이다. 본 실험과 같이 양의 태아를 자궁 내에 복원하고 계속 성장시키는 실험에서는 정확한 임신기간의 측정이 무엇보다도 중요하다. 본 실험에서 적용한 임신기간의 측정은 태아의 정미장(頂尾長, crown-rump length)을 초음파로 측정하여 이를 임신기간으로 환산하는 방법이였다.(14) 그러나 자궁을 열고 태아를 수술하는 도중 본 연구자가 경험 한 것은 초음파로 측정하여 계산된 태아의 연령이 비슷함에도 불구하고 모체에 따라서 태아의 발육상태가 육안상 차이가 많이 났다는 점이다. 이는 본 연구자에게 초음파로 측정된 임신연령에 문제가 있지 않을까 하는 의구심을 가지게 하였다. 더군다나 실험이 진행되는 동안 모체 번호 2번(초음파상 임신기간 112일), 모체번호 5번(초음파상 임신기간 105일), 모체번호 6번(초음파상 임신기간 110일)의 양이 하루 간격으로 분만을 하기 시작하였으며 분만한 태아는 만삭을 다 채운 성숙한 어린 양의 모습을 가지고 있어서 이러한 의구심을 더욱 증폭시켰다. 최종적으로 초음파로 측정된 임신기간 112일의 태아(모체번호 2번의 태아번호 4번)의 폐가 임신 120일 이후에나 볼 수 있는 성숙한 폐의 소견(alveolar stage, Fig. 3-B)을 보여 주었다. 이런 여러 정황이 본 연구자에게 정확한 임신기간의 측정이 되지 못하였다는 확신을 주게 되었다. 참고로 양 태아의 폐의 발달 단계는 embryologic stage (임신 제 0~40일), pseudoglandular stage (임신 제 40~80일), canalicular stage (임신 제 80~120일), alveolar stage (임신 제 120일 이후) 등으로 나뉘어진다.(15) 본 연구자는 초음파를 이용하여 태아의 연령을 측정하는 방법은 종과 개체의 차이로 인한 오차와 함께 국내 경험부족으로 정확할 수가 없다고 생각한다. 이는 국내 수의학자와의 의견 교환에서도 확인된 바이다. 양에서의 정확한 임신기간을 측정하는 방법으로는 가장 정확하다고 할 수 있는 방법은 breeding date record로 암컷 양이 발정될 때까지 수컷 양과

분리시킨 후에 발정이 일어나면 수컷과 교배를 시킨 다음에 그 교배날짜를 기록하고 발정기간 동안 수컷과 분리시키는 방법이 있다.(24)

Kent 등은 33마리의 양의 태아에서 횡격막탈장을 임신 68일에서 72일 사이에 시행한 결과 오직 12마리만이 생존하여 태아 사망률이 36.4%로 보고하고 있으며 그 원인으로는 유산, 사산, 자궁내 태아 사망으로 인한 미이라화가 원인이라고 하였다.(24) 본 연구에서는 모체의 사망으로 인한 태아 사망을 포함하여 태아 사망률이 60%로 이들의 보고보다 높았다. 그 원인은 양 마취의 미숙함, 임신연령의 오차 그리고 수술 후 관리 경험의 부족 등이 복합적으로 작용하였다고 생각한다.

본 실험에서 위와 같은 문제가 있음에도 불구하고 실험군 태아 7마리 모두에서 복강내 장기가 흉강으로 탈장되어 있음이 초음파상 확인되었음은 횡격막을 만드는 태아수술은 100%로 성공하였음을 확인하여 준다. 또한 실험군의 분만한 태아의 부검 소견, 실험군 폐의 무게가 대조군의 폐의 무게보다 작다는 사실, 그리고 횡격막탈장을 만든 최측 폐의 무게가 횡격막탈장을 만들지 않은 우측 폐의 무게보다 작음은 이미 국외에서 발표된 연구 결과와 일치한다.(3,24) 조직학적 소견에서 흥미로운 것은 횡격막을 만든 상태로 자궁에서 19일간 성장한 태아의 폐는 좌우 폐의 조직학적 소견(Fig. 4)에 커다란 차이점이 없었으나 횡격막탈장이 28일간 지속된 태아의 폐에서는 좌우 폐의 형태학적 차이점이 확연하게 되었다는 점이다. 이는 양의 태아에서 폐의 형태학적 미성숙을 초래하기 위하여서는 횡격막탈장의 지속기간이 19일로는 불충분하며 4주 이상은 되어야 한다는 사실을 말하여 준다고 생각한다.

결 론

본 실험을 통하여 양의 태아를 이용한 횡격막탈장의 모델을 국내 환경에서도 만들 수 있었다. 그러나 국내 사정상 양의 임신기간의 측정, 마취 그리고 수술 후 관리 및 사육에 있어서 앞으로 개선되어야 할 점이 많다고 생각한다.

감사의 글

어려운 여건에도 본 연구가 수행될 수 있게 도와주신 연세의대 임상의학 연구센터의 여러분에게 진심으로 감사의 마음을 전합니다.

REFERENCES

- 1) Han SJ. Fetal surgery. the Conference Book of the third Meeting of Korean Society of Ultrasound in Obstetrics &

- Gynecology; 2001 April 1, p.59-72, Seoul, Korea.
- 2) Harrison MR. The Fetus with Diaphragmatic Hernia. In: Harrison MR, Evans MI, Adzick NS, Holzgreve W, editors. *The Unborn Patient: The Art and Science of Fetal Therapy*. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunder; 2001. p.297-314.
 - 3) deLorimer AA, Tierney DF, Parker HR. Hypoplastic lungs in fetal lambs with surgically produced congenital diaphragmatic hernia. *Surgery* 1967;62:12-7.
 - 4) Harrison MR, Jester JA, Ross NA. Correction of congenital diaphragmatic hernia in utero. I. The model: Intrathoracic balloon produces fatal pulmonary hypoplasia. *Surgery* 1980; 88:174-82.
 - 5) Harrison MR, Bressack MA, Churg AM, de Lorimer AA. Correction of congenital diaphragmatic hernia in utero. II. Simulated correction permits fetal lung growth with survival at birth. *Surgery* 1980;88:260-8.
 - 6) Pringle KC, Turner JW, Schofield JC, Soper R. Creation and repair of diaphragmatic hernia in the fetal lamb: Lung development and morphology. *J Pediatr Surg* 1984;19:131-40.
 - 7) DiFiore JW, Fauza DO, Slavin R, Peters CA, Fackler JC, Wilson JM. Experimental fetal tracheal ligation reverses the structural and physiological effects of pulmonary hypoplasia in congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 1994;29: 248-57.
 - 8) Hedrick MH, Estes JM, Sullivan KM, Bealer JF, Kitterman JA, Flake AW, et al. Plug the lung until it grows (PLUG): A new method to treat congenital diaphragmatic hernia in utero. *J Pediatr Surg* 1994;29:612-7.
 - 9) Bealer JF, Skarsgard ED, Hedrick MH, Meuli M, VanderWall KJ, Flake AW, et al. The 'PLUG' Odyssey: Adventures in experimental fetal tracheal occlusion. *J Pediatr Surg* 1995; 30:361-5.
 - 10) VanderWall KJ, Bruch SW, Meuli M, Kohl T, Szabo Z, Adzick NS, et al. Fetal endoscopic ('Fetendo') tracheal clip. *J Pediatr Surg* 1996;31:1101-4.
 - 11) Skarsgard ED, Meuli M, VanderWall KJ, Bealer JF, Adzick NS, Harrison MR. Fetal endoscopic tracheal occlusion ('Fetendo-PLUG') for congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 1996;31:1335-8.
 - 12) Graft JL, Gibbs DL, Adzick NS, Harrison MR. Fetal hydrops after in utero tracheal occlusion. *J Pediatr Surg* 1997;32:214-8.
 - 13) VanderWall KJ, Skarsgard ED, Filly RA, Eckert J, Harrison MR. Fetendo-clip: A fetal endoscopic tracheal clipping in a human fetus. *J Pediatr Surg* 1997;32:970-2.
 - 14) Chavez MJ, Steinmann CC, Bichhardt K. Fetal heart rat measurement and sonographic fetometry for determination of fetal age in sheep. *DTW* 1996;103:478-80.
 - 15) Alcorn DG, Adamson TM, Maloney JE, Robinson PM. A morphologic and morphometric analysis of fetal lung development in the sheep. *Anat Rec* 1981;201:655-67.
 - 16) Langhan MR Jr, Kays DW, Ledbetter DJ, Frentzen B, Sanford LL, Richards DS. Congenital diaphragmatic hernia: Epidemiology and outcome. *Clin Perinatol* 1996;23:671-88.
 - 17) Harrison MR, Adzick NS, Estes JM, Howell LJ. A prospective study of the outcome of fetus with congenital diaphragmatic hernia. *JAMA* 1994;271:382-4.
 - 18) Choi SH, Han SJ, Kim MS, Park J, Kim JS, Ahn DS, et al. Effect of halothane anesthesia on the fetal rabbit in utero. *J Korean Surg Soc* 1997;52:1-6.
 - 19) Kim TY, Kim WK. Fetal surgery: Gastroschisis model in rabbit. *J Korean Surg Soc* 1997;53:1-10.
 - 20) Lee JR, Lim HG, Kim WG, Kim CS, Choi JY, Kim YJ. Experimental fetal cardiopulmonary bypass in the fetal lamb model. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg* 1999;32:495-503.
 - 21) Cho M, Kim W. Experimental diaphragmatic hernia and tracheal ligation in a fetal rabbit model. *J Korean Asso Pediatr Surg* 2000;6:1-9.
 - 22) Lee WB, Lee JK, Lee PC, So BJ, Chae KM. Congenital diaphragmatic hernia in rat using nitrofen: an animal model. *J Korean Surg Soc* 2001;60:355-60.
 - 23) Anesthetic procedures and techniques in ruminants. In: Muir WW, Hubbell JA, editors. *Handbook of Veterinary Anesthesia*. 2nd ed. St. Louis; Mosby-Year Book; 1990. p.311-9.
 - 24) Kent GM, Olley PM, Creighton RE, Dobbins T, Bryan MH, Symchych P, et al. Hemodynamic and pulmonary changes following surgical creation of a diaphragmatic hernia in fetal lamb. *Surgery* 1972;72:427-33.