

# 취기관 동종이식편에 있어서 냉동보관 온도 및 기간이 거부반응에 미치는 영향

원 태 희\* · 장 지 원\* · 안 재 호\*

=Abstract=

## Influence of the Difference in Temperature and Duration of Storage on the Rejection of Cryopreserved Rat Tracheal Homograft

Taehee Won, M.D.\*, Ji Won Jang, M.D.\*, Jae Ho Ahn, M.D.\*

**Background:** It has been known that cryopreservation can reduce the rejection in the tracheal homograft implantation with preserving its viability. However, the effect of difference in the temperature and duration of storage on the rejection has not been proven. Therefore we investigated the effects of storage temperature and duration on the rejection of cryopreserved rat tracheal homograft. **Material and Method:** Twenty four rat's tracheas were harvested from rats and stored in  $-80^{\circ}\text{C}$  deep freezer and  $-196^{\circ}\text{C}$  nitrogen tank for 1, 3, and 6 months respectively. The forty eight tracheal segment(each trachea divided into two) were implanted in peritoneal cavity with omental wrapping. The 48 recipient rats were divided into six groups(8 rats/group). Group 1, 3, and 5 were rats implanted with trachea of preservation in  $-80^{\circ}\text{C}$  for 1 month, 3 months and 6 months respectively. And Group 2, 4, and 6 were rats implanted with trachea of preservation in  $-196^{\circ}\text{C}$  for 1 month, 3 months and 6 months, respectively. Group 7(n=8) was control group that fresh trachea without cryopreservation was implanted. After 14 days, the implanted tracheas were harvested and the degrees of rejection were investigated with moncellular infiltration and luminal obliteration of trachea by fibrous tissue. **Result:** Most of the tracheas in each group showed moderate or severe degree of moncellular infiltration and there was no statistically significant difference between the 7 groups. The luminal obliterations were less in groups 1,2,3,4,5, and 6 compared to group 7, however, there was no statistical difference. The cartilages were maintained their viability even in the severe perichondral moncellular infiltration in all groups. **Conclusion:** There was no difference in rejection between groups of different storage temperature and duration. It is supposed that proper use of immunosuppressants is required even after cryopreserved tracheal homograft implantation.

(Korean Thorac Cardiovasc Surg 2000;33:929-34)

**Key words :** 1. Cryopreservation  
2. Rejection

\*이화여자대학교 의과대학 목동병원 흉부외과, 이화여자대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic & Cardiovascular Surgery, Ewha Womans University, Mokdong Hospital, Ewha Womans University College of Medicine, Seoul, Korea.

† 이 논문은 1999년도 목동병원 임상 연구비 보조로 이루어졌음.

논문접수일 : 2000년 7월 15일 심사통과일 : 2000년 10월 30일

책임저자 : 원태희(158-710) 서울특별시 양천구 목동 911-1, 이화여자대학교 의과대학 목동병원 흉부외과. (Tel) 02-650-5151  
(Fax) 02-2649-4360

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

## 서 론

기관에 광범위한 병변이 있는 경우 기관의 해부학적 특성 상 병변의 절제 후 단단문합이 불가능한 경우가 많으며 따라서 기관 대체물질을 필요로 한다<sup>1)</sup>. 기관의 대체물질로 현재까지 silicon과 같은 인조물질이나 심낭조직, 공장(jejunum)과 같은 자가 조직편이 많이 사용되고 있으나 인조물질의 경우 염증반응과 이로 인한 기도폐쇄, 괴사, 인조물질의 위치이동과 이로 인한 혈관 미란(erosion)과 같은 치명적인 단점이 있고 자가 조직편의 경우에도 기관의 개통성을 유지하기 어려우며 기관의 한쪽면만을 대체할 수밖에 없다는 한계를 가지고 있다<sup>2,3)</sup>. 따라서 최근 들어 다른 장기에서와 마찬가지로 기관의 동종이식편의 임상 적용 가능성에 대한 연구가 활발하다<sup>4)</sup>.

기관동종이식의 경우 초냉동 보관된 기관의 상피세포 및 연골세포의 생육성이 유지되며 항원성이 줄어든다고 알려져 있으나 냉동보관 온도 및 기간이 항원성에 미치는 영향에 관해서는 알려져 있지 않다<sup>5)</sup>. 이번 연구의 목적은 냉동보관 온도의 차이와 기간이 동종이식편의 항원성에 영향을 미치는 가를 알아봄으로써 기관 동종이식편의 적절한 냉동보관 온도를 정립하고, 향후 임상적용에 도움을 얻는데 있다.

## 대상 및 방법

### 초냉동 보관 동종이식편의 준비

몸무게 300 g 정도의 Sprague-Dawley 쥐 24마리를 경추탈골로 사망케 한 다음 10% 베타딘 용액으로 목 부위를 소독하고 절개하여 기관을 적출 하였다.

기관은 첫 번째 기관연골에서부터 기관 분기부까지 적출 하였다. 적출한 기관은 생리식염수로 세척한 다음 10% DMSO 및 RPMI, Fetal Bovine serum이 들어있는 조직 보존액에 넣었다. 12개의 기관 이식편은 -80℃에 넣어 보관하였고 다른 12개의 기관 이식편은 -196℃의 액체 질소통에 넣어 보관하였으며 보존액에 넣은 기관을 점진적으로 냉동시키기 위해 시간당 1℃ 씩 감온되는 programmed freezer에 넣어 감온시킨 후 보관하였다.

### 냉동보관 동종이식편의 녹임(thawing)

냉동 보관된 쥐 기관 조직편을 보관 용기채로 37℃ 생리식염수에 담가 급속히 녹였다. 녹인 후 기관 조직편에 남아 있는 DMSO를 제거하기 위해 기관 조직편을 5% DMSO 용액이 들어있는 혼합배지 용액에 넣어서 세척한 다음 2차로 DMSO가 없는 같은 배지 용액에 넣어 세척하였다.

### 동종이식편의 복강내 이식

냉동보관 1개월과 3개월, 6개월 후 -80℃ 및 -196℃에서 보관 중인 기관 조직편을 꺼내 녹인 후 2개로 나누어(n=48) 복강내 이식하였다. 몸무게 300 g 정도의 Sprague-Dawley 쥐를 수술시작 8시간 전부터 금식시켰으며 ketamine 및 xylazine을 근육주사 하여 마취하고 인공호흡기의 도움 없이 자가 호흡을 살리면서 수술할 수 있도록 마취정도를 조절하였다.

마취후 쥐를 양와위로 눕히고 복부의 털을 제거한 후 잘 소독하고 복부에 약 4 cm 정도의 종절개를 한 다음 대망(omentum)을 박리 하였다.

박리된 대망을 복강 밖으로 꺼내어 기관 동종이식편을 잘 감싼 다음 복부 근육에 고정시킨 후 봉합하였다. 이식 동종이식편의 종류에 따라 다음의 7군으로 분류하였다.

- 1군은 -80℃에서 1달간 보관한 동종이식편을 이식한 군(n=8)
- 2군은 -196℃에서 1달간 보관한 동종이식편을 이식한 군(n=8)
- 3군은 -80℃에서 3달간 보관한 동종이식편을 이식한 군(n=8)
- 4군은 -196℃에서 3달간 보관한 동종이식편을 이식한 군(n=8)
- 5군은 -80℃에서 6달간 보관한 동종이식편을 이식한 군(n=8)
- 6군은 -196℃에서 6달간 보관한 동종이식편을 이식한 군(n=8)
- 7군은 대조군으로 냉동보관하지 않은 기관이식편을 이식한 군(n=8)

항생제는 ceftrazol<sup>®</sup> 100 mg을 수술 전 한번만 근육주사 했으며 모든 군에서 면역 억제제는 투여하지 않았다.

### 조직학적 검사

복강내 이식 후 14일 후에 경추 탈골로 쥐를 사망시킨 후 이식된 기관 동종이식편을 박리하여 10% formalin용액에 고정시키고 H&E 염색한 후 광학현미경을 사용하여 다음의 사항들을 검사하였으며 거부반응의 차이는 염증단세포의 침윤 및 내강 폐쇄 정도로 판단하였다.

- ① 육안검사상 협착, 괴사 등을 비교 관찰하였다.
- ② 염증 단세포의 침윤 정도

전체 간질조직 중의 염증 단세포의 침윤 정도를 다음의 등급법을 사용하여 측정하였다<sup>6)</sup>.

- none : absent infiltration
- mild : limited infiltration(<30%)
- moderate : local infiltration(30% to 70%)
- severe : diffuse infiltration(>70%)

- ③ 섬유조직의 증식 및 염증 단세포의 침윤에 의한 내강 폐쇄 정도

- none : absent luminal obliteration
- mild : limited luminal obliteration(<30%)
- moderate : moderate luminal obliteration(30% to 70%)
- severe : complete luminal obliteration(>70%)

- ④ 연골세포의 상태 및 연골 주위 염증 단세포의 침윤 정도를 관찰하였다.



Fig. 1. well preserved epithelium and cartilage of the cryopreserved trachea(A: -80°C, B: -196°C)(H&E, ×40)

Table 1. Gross findings

Group	1	2	3	4	5	6	7
Normal	5	7	5	5	5	6	4
Stenosis	3	1	2	3	3	2	4
Necrosis	0	0	1	0	0	0	0
Total	8	8	8	8	8	8	8

통계학적 처리

각 군에 있어 거부반응의 정도 차이는 개인 컴퓨터용 통계프로그램인 SAS를 사용하여 Fisher's exact test 및 Ridit test 를 사용하여 검증하였으며 유의수준은 0.05를 기준으로 하였다.

결 과

냉동보관 동종이식편

냉동보관 동종이식편 48개 모두 육안 소견상 괴사 등의 소견은 보이지 않았으며 조직학적 검사 상에서도 상피세포 및 연골조직이 잘 보존되어 있었다(Fig 1).

사망 및 육안 소견(Table 1)

복강내 이식 후 14일까지 사망한 쥐는 없었으며 창상 감염도 보이지 않았다.

육안소견상 협착은 1군에서 3례, 2군에서 1례, 3군에서 2례, 4군에서 3례 5군에서 3례, 6군에서 2례, 7군에서 4례씩 보였고 괴사는 3군에서만 1례 관찰되었다.

협착 및 괴사 정도에 있어서 각 군간의 통계학적인 유의성은 없었다(p>0.05).



Fig. 2. severe monocellular infiltration in the interstitial tissue (H&E, ×40).

Table 2. Degree fo Monocellular infiltration

Group	1	2	3	4	5	6	7
none	0	0	0	0	0	0	0
mild	2	1	2	2	2	1	0
moderate	2	2	1	1	1	3	2
severe	4	5	5	5	5	4	6
Total	8	8	8	8	8	8	8

염증단세포의 간질조직 침윤(Table 2)

대부분의 동종이식편에 있어서 중등도 이상의 심한 단세포 침윤 소견을 보였다(Fig. 2). 이러한 소견은 1,2,3,4,5,6 군에서 대조군인 7군에 비해 약간 적게 나타났으나 통계학적인 유의성은 없었으며(p>0.05) 보관 온도의 차이와 기간에 따른 차이 역시 보이지 않았다(p>0.05).

기간 내강의 폐쇄(Table 3)

단세포 침윤과 마찬가지로 대부분의 기관 동종이식편에서 중등도 이상의 내강 폐쇄 소견을 보였으며(Fig. 3) 1,2,3,4,5,6 군에서 7군에 비해 폐쇄 정도가 적었으나 통계학적인 차이가 없었으며(p>0.05) 1,2,3,4,5,6 군 각각에 있어서도 통계학적인 차이가 없었다(p>0.05).

연골조직

간질조직에 심한 단세포의 침윤이 있거나 연골 주위의 단세포 침윤이 심한 경우에도 대부분의 연골세포는 생육성을



Fig. 3. total luminal obstruction with fibrous tissue with severe monocellular infiltration(H&E, ×40).

Table 3. Degree of luminal obliteration

Group	1	2	3	4	5	6	7
none	2	3	0	3	2	2	1
mild	2	2	2	2	1	3	1
moderate	2	1	2	1	2	0	2
severe	2	2	3	2	3	3	4
Total	8	8	8	8	8	8	8

유지하고 있었으며 연골의 괴사나 석회화 소견은 보이지 않았다(Fig. 4).

## 고 찰

기관에 병변이 있을 경우 이를 절제하고 단단문합을 하는 것이 가장 이상적이나 기관의 해부학적 특징상 어른에서는 전체 기관 길이의 1/2, 소아에서는 1/3 정도까지만 절제가 가능하며(이는 이론상의 숫자이며 따라서 실제 임상적으로는 훨씬 짧은 길이만 가능하다) 이보다 더 광범위한 병변의 경우에는 기관 대체물질을 필요로 한다<sup>1)</sup>. 이상적인 기관 대체물질로 사용되어지려면 기관의 개통성을 유지할 수 있는 비교적 딱딱한 물질이어야 하며 이물질 반응이 적어 육아종형성이 없어야 할 뿐만 아니라 기관내 분비물을 효과적으로



Fig. 4. well preserved cartilage even in the severe perichondral monocellular infiltration(H&E, ×100).

배출시키기 위한 섬모운동이 있는 것이 좋다. 현재까지 기관 대체물질로 silicone과 같은 인조물질이나 연골조직, 심낭, 공장(jejunum)과 같은 자가 조직이 사용되고 있으나 인조물질은 염증반응을 초래하며 이로 인한 기도폐쇄, 괴사 등을 일으키게 된다. 또한 인조물질의 위치이동, 혈관 미란(erosion)으로 인한 치명적인 출혈을 초래하며 따라서 최근에는 거의 사용되어지지 않고 있다<sup>2)</sup>. 또한 자가 심낭조직 및 연골, 공장 등의 자가 조직편을 이용한 기관 성형술이 연구 시도되었으나 이들 역시 기관의 개통성을 유지하기 어렵고 기관의 일부 한쪽면만을 대체할 수밖에 없다는 한계를 가지고 있다<sup>8,9)</sup>.

따라서 이러한 문제점들을 해결하기 위해 기관 동종이식편에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며 실제로 임상에 적용한 사례도 보고되고 있다<sup>4)</sup>.

초냉동 기관 동종이식편은 기관 상피세포가 살아있어 상피세포의 섬모운동으로 기관 분비물의 제거가 용이하다는 장점뿐만 아니라 초냉동보관으로 장기간의 보관이 가능하며 기관의 항원성을 없애 준다는 장점이 있다. 그러나 초냉동보관으로 기관의 항원성이 저하된다는 주장에는 이견이 많다<sup>10)</sup>. 초냉동 보관이 기관의 항원성을 변화시키는 지의 여부는 다른 장기에서와는 다르게 특히 기관에서는 중요한데 이는 기관 대체물질을 필요로 하는 기관의 병변이 대부분 악성종양에 의한 것이 많고 따라서 수술 후 면역억제제를 사용할 수 없는 경우가 많기 때문이다<sup>11)</sup>.

1996년 Yokomise, 1996년 Tojo, 1996년 Inutsuka 등은 각각 초냉동 보관 기관 동종이식편은 면역억제제를 사용하지 않

아도 거부반응을 나타내지 않고 생육성을 유지했다고 보고했으나 1989년 Deschamps 등은 심한 거부반응을 나타내 결국 동종이식편의 괴사를 가져온다고 보고한 바 있다<sup>1,12-14</sup>.

국내에서도 1998년 원 등이 초냉동 토끼 기관이식편에 있어서 냉동보관하지 않은 동종이식편에 비해 거부반응이 줄어들었으나 완전히 거부반응이 없어진 것은 아니며 따라서 이식 후 면역억제제의 사용이 필요하다고 발표한 바 있으며 1999년 이 등은 면역억제제를 사용하지 않은 쥐 동종이식편은 비록 초냉동보관을 한다 하더라도 심한 거부반응을 나타낸다고 보고 한 바 있다<sup>15,16</sup>. 이러한 보고들은 이번 연구결과와도 맥락을 같이한다.

기관 동종이식편에 있어 초냉동 보관이 위와 같이 다른 결과를 나타내는 이유에 대해서는 아직까지 명확히 알려져 있지 않으나 우선 종(species)의 차이에서 비롯된 것이 아닌가 추측할 수 있다. 항원성이 줄어들다는 대부분의 보고가 주로 개 등의 비교적 큰 동물의 동종이식편에 대한 연구이며 항원성에 변화가 없다는 보고는 주로 쥐를 대상으로 실험한 결과였다<sup>7,12,15,16</sup>. 또한 보관온도의 차이, 보관 기간의 차이를 생각해 볼 수 있다. 기관은 상피세포, 연골 및 주위 연결조직으로 이루어져 있으며 이 중 특히 상피세포가 거부반응을 일으킨다고 알려져 있으며 따라서 초냉동 보관으로 상피세포가 파괴되고 파괴된 상피세포는 수여동물(donor)의 상피세포가 이동하여(migration) 새로 형성되기 때문에 거부반응이 일어나지 않다고 주장하고 있다<sup>13</sup>. 이러한 주장은 개의 기관 동종이식편에 있어서 재생된 기관 상피세포가 수여동물의 상피세포에서 유래된 것이라는 보고가 나오면서 설득력을 얻고 있다<sup>18</sup>. 그러나 -196℃ 에서도 상피세포는 파괴되지 않고 그 기능을 유지한다는 보고가 많으므로 이러한 주장에 대해서는 연구가 계속 되어야겠다<sup>1</sup>.

보존온도에 있어 -80℃ 와 -196℃는 각각의 장점을 갖고 있다. -80℃에 보관하는 방법은 간편하고 특히 수술장에서 직접 동종이식편을 관찰하여 필요한 동종이식편을 선택할 수 있다는 장점이 있으며 냉동보관의 가장 큰 단점인 ice crystal의 형성이 적다는 장점이 있다. Ashwood-Smith 등이 1980년 발표한 바에 의하면 -130℃가 넘으면 ice crystal의 형성이 증가한다고 하며 따라서 -80℃에서 보관하는 것이 -196℃에 보관하는 것보다 ice crystal에 의한 세포 파괴를 줄일 수 있다고 한다<sup>19</sup>. 그러나 1989년 Lange등은 -130℃에서도 세포의 생리 화학적 변화가 계속되며 따라서 장기간의 냉동보관 시에는 이보다 더 낮은 온도에서 보관해야 한다고 발표하였다<sup>19</sup>. 그러나 Yokomise 등은 -85℃에서 10개월 동안 보관한 기관 동종이식편은 이식 후에도 생육성을 유지한다고 발표한바 있다<sup>13</sup>.

결론적으로 초냉동 보관 기관 동종이식편이 이상적인 기

관 대체물질로 사용되려면 생육성은 유지하면서도 거부반응을 줄일 수 있는 적절한 보관 온도와 기간 등이 정립되어야 할 것이다.

## 결 론

쥐기관 동종이식편은 냉동보관으로 거부반응이 감소되지 않으며 냉동보관 온도(-80℃, -196℃)와 기간(1,3,6개월)의 차이에 따른 차이도 보이지 않았다. 따라서 쥐기관 냉동보관 동종이식편의 이식에 있어서 면역억제제의 적절한 사용이 필수적이라 하겠다.

## 참 고 문 헌

- Tojo T, Niwaya K, Sawabata N, et al. *Tracheal allogenic immunoresponese is reduced by cryopreservation: Canine experiment.* Transplant Proc 1996;28:1814-5.
- Grillo HC. *Tracheal replacement.* Ann Thorac Surg 1990; 49:864-5.
- Cosentino CM, Backer CL, Idriss FS, Holinger LD, Gerson CR, Mavroudis C. *Pericardial patch tracheoplasty for severe tracheal stenosis in children:intermediate results.* J Pediatr Surg 1991;26:879-85.
- Jacobs JP, Elliott MJ, Haw MP, et al. *Pediatric tracheal homograft reconstruction: A novel approach to complex tracheal stenoses in children.* J Thorac Cardiovasc Surg 1996;112:1549-60.
- Kashima I, Yozu R, Shin H, Yamada T, Hata J, Kawada S. *Effect of storage temperature on cell viability in cryopreserved canine aortic, pulmonic, mitral, and tricuspid valve homograft.* Jpn J Thorac Cardiovasc Surg 1999;47:153-7.
- 성숙환, 원태희. *염기 섬유아세포 성장인자가 토끼기관의 자가이식편의 초기 혈관재형성 및 상피세포 재생에 미치는 영향.* 대흉외지 1997;30:559-65.
- Nakanishi R, Shirakusa T, Hanagiri T. *Early histopathologic feature of tracheal allotransplant rejection: A study in nonimmunosuppressed dogs.* Transplant Proc 1994;26:3715-8.
- Lupinetti FM, Tsai TT, Kneebone JM, Bove EL. *Effect of cryopreservation on the presence of endothelial cells on human valve allografts.* J Thorac Cardiovasc Surg 1993; 106:912-7.
- Willner A, Velez FJ. *Rib-muscle flap for the repair of congenital tracheal stenosis.* Am Otol Rhinol Laryngol 1994;103:601-8.
- Bujia J, Wilmes E, Hammer C, Kastenbauer E. *A comparison of class II atigenicity of human tracheal allografts stored in cialit and methiolate.* Laryngoscope 1990;100:1337-40.
- Nakanishi R, Yasumoto K, Shirakusa T. *Short-course*

- immunosuppression after tracheal allotransplantation in dogs.* J Thorac Cardiovasc Surg 1995;109:910-7.
12. Inutsuka K, Kawahara K, Takachi T, et al. *Reconstruction of trachea and carina with immediate or cryopreserved allografts in dogs.* Ann Thorac Surg 1996;62:1480-4.
  13. Yokomise H, Inui K, Wada H, et al. *High-dose irradiation prevents rejection of canine tracheal allografts.* J Thorac Cardiovasc Surg 1994;107:1391-7.
  14. Deschamps C, Trastek VF, Ferguson JL, et al. *Cryopreservation of canine trachea : Functional and histological change.* Ann Thorac Surg 1989;47:208-12.
  15. 원태희, 서정욱, 성숙환. 토끼 경부기관의 초냉동보관 동종이식편 기관이식술-생육성 및 거부반응에 미치는 영향. 대흉외지 1998;31:1127-33.
  16. 이창하, 성숙환, 오미혜. 이소이식된 쥐 기관의 면역억제 및 초냉동 보관에 의한 형태학적 변화: 폐색성 모세기관지염의 연구를 위한 동물 실험 모델. 대흉외지 1999;32:215-23.
  17. 성숙환, 김경환, 서정욱, 박종호. 쥐의 초냉동기관 이소이식 후 형태학적 변화. 대흉외지 1996;29:1182-90.
  18. Mukaida T, Shimizu N, Aoe M, et al. *Origin of regenerated epithelium in cryopreserved tracheal allotransplantation.* Ann Thorac Surg 1998;66:205-8.
  19. Feng XJ, Van Hove CE, Walter PH, Herman AG. *Effects of storage temperature and fetal calf serum on the endothelium of porcine aortic valves.* J Thorac Cardiovasc Surg 1996;111:218-30.

**=국문초록=**

**배경:** 기관의 동종이식편은 초냉동보관으로 생육성을 유지할 수 있으며 항원성이 줄어든다고 알려져 있으나 냉동보관 온도 및 기간에 따른 항원성의 변화는 아직까지 명확히 밝혀져 있지 않다. 따라서 이번 연구에서는 냉동보관 온도의 차이 및 기간이 쥐 기관 동종이식편의 거부반응에 미치는 영향을 연구하였다. **대상 및 방법:** 24개의 쥐 기관을 적출하여 12개씩 -80℃ 냉동고 및 -196℃ 질소탱크에 각각 1, 3, 6개월씩 보관하였다. 냉동보관한 기관을 반으로 나누어 48마리의 쥐복강에 대망으로 감싼 다음 이식하였다. 1, 3, 5군은 -80℃ 냉동고에 각각 1, 3, 6개월씩 보관한 기관 동종이식편을 이식하였고 2, 4, 6군은 -196℃ 질소탱크에 각각 1, 3, 6개월씩 보관한 기관 동종이식편을 이식하였다. 7군은 대조군으로 냉동보관하지 않은 동종이식편을 이식하였다. 이식후 14일째 이식된 동종이식편을 적출하여 간질조직의 단세포 침윤정도 및 내강 폐쇄 정도를 관찰하여 거부반응을 정도를 측정하였다. **결과:** 7개 군 모두에서 중등도 이상의 심한 단세포 침윤을 보였으며 각 군간의 통계학적인 차이를 보이지 않았다. 1, 2, 3, 4, 5, 6군에서 7군에서 보다 내강 폐쇄 정도가 적었으나 통계학적인 의미는 없었다. 모든 군에서 연골주위 단세포 침윤이 심한 경우에도 연골세포는 비교적 생육성을 잘 유지하고 있었다. **결론:** 냉동보관 온도 및 보관 기간의 차이에 따른 동종이식편의 거부반응의 차이는 없었으며 모든 군에서 심한 거부반응을 보였다. 따라서 냉동 보관 쥐 동종이식편을 이용한 실험에서는 적절한 면역억제제의 사용이 필수적이라고 생각된다.

**중심 단어:** 1. 냉동보관  
2. 거부반응