1999년도 신진 연구비 논문

Korean Circulation J 2003;33(9):832-846

개질 고분자 이식편을 이용한 관상동맥용 스텐트 그라프트의 개발

연세대학교 의과대학 심장혈관병원 심장내과학교실,[1] 심혈관연구소,[2] 병리학교실,[3]
성균관대학교 고분자공학과,[4] 아주대학교 분자과학기술학과[5]

최동훈[1,2] · 고영국[1,2] · 김세훈[3] · 김현주[4] · 정동준[4]
박기동[5] · 정광회[2] · 장양수[1,2] · 김성순[1,2]

Development of New Coronary Stent-Grafts using Surface-Modified Polymers

Donghoon Choi, MD[1,2], Young-Guk Ko, MD[1,2], Se Hoon Kim, MD[3],
Hyun Joo Kim, PhD[4], Dong June Chung, PhD[4], Ki Dong Park, PhD[5],
Kwang Hoe Chung, PhD[2], Yangsoo Jang, MD[1,2] and Sung Sun Kim, MD[1,2]

[1]Yonsei Cardiovascular Center and Cardiolgy Division, [2]Cardiovascular Research Institute and
[3]Department of Pathology, Yonsei University College of Medicine, Seoul,
[4]Department of Polymer Science and Engineering, Sungkyunkwan University, Suwon,
[5]Department of Molecular Science and Technology, Ajou University, Suwon, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : The purpose of this study was to develop a new type of coronary stent-graft, using surface modification of polymeric synthetic graft materials, to improve biocompatibility. **Materials and Methods** : Three different polymers, Dacron, GoreTex and Teflon were tested. During the surface-modification process, hydroxybutyl acrylate (HBA) choline, an excellent blood-compatible phospholipid, was stably grafted onto the polymer surface. The optimal conditions for maximizing the amount of HBA choline grafted onto the polymeric surface were determined by quantitative analysis. The surface-modified polymers were then tested for their biocompatibility using an *in vitro* platelet adhesion test. Thereafter, stent-grafts were constructed with each of three different types of surface-modified polymer and implanted in porcine coronary arteries to compare their biocompatibility in vivo. **Results** : In the platelet adhesion test, all the surface-modified polymers showed better biocompatibility than the control polymers. The *in vitro* biocompatibility correlated positively with the increasing quantity of grafted HBA choline. In the animal experiment, the surface-modified Teflon stent-graft showed the best biocompatibility. Whereas, all pigs implanted with the modified Dacron and GoreTex stent-grafts died within 48 hours of the implantation, five out of the six pigs with the Teflon stent-grafts remained alive at after the 4th week. In four of the five surviving pigs, angiography, intravascular ultrasound (IVUS) and histological evaluations demonstrated the patency of the stent-grafts, with a uniform neointima formation covering the entire stent-graft, without stent thrombosis or chronic inflammatory cells. **Conclusion** : The surface-modified Teflon coronary stent-grafts showed good *in vitro* and *in vivo* biocompatibility. Further animal and clinical studies will be required to validate the efficacy of the surface-modified polymer stent-grafts. **(Korean Circulation J 2003;33(9):832-846)**

KEY WORDS : Coronary disease ; Stents ; Polymers.

논문접수일 : 2003년 2월 30일
심사완료일 : 2003년 4월 10일
교신저자 : 김성순, 120-752 서울 서대문구 신촌동 연세대학교 의과대학 심장내과학교실
전화 : (02) 361-7049 · 전송 : (02) 393-2041 · E-mail : kimss2866@yumc.yonsei.ac.kr

서 론

1964년 Dotter와 Judkins[1]에 의해 폐쇄성 혈관질환에서 기구를 이용한 치료개념이 도입된 이래, 직경이 큰 하지동맥 뿐만 아니라 관상동맥의 협착성 질환에서도 경피적 경혈관 풍선 확장성형술이 널리 보급되었고, 임상에서 비수술적 치료방법의 하나로 자리를 잡았다.[2-4] 또한 최근 개발되어 임상에서 많이 사용되고 있는 스텐트는 풍선성형술의 문제점인 내막박리와 이로 인한 급성폐쇄를 억제하는데 매우 효과적인 치료법일 뿐 아니라 재협착율도 감소시키는 것으로 입증되었다.[5][6] 그러나, 이러한 스텐트 삽입술의 가장 큰 문제점은 대부분의 금속 스텐트가 표면에 양전하를 띄고 있고, 표면이 불규칙적이기 때문에 생기는 스텐트내 혈전의 형성과 신생내막 형성에 의한 스텐트 재협착과 관상동맥 파열이다.[7-9] 이러한 문제점을 극복하고자 여러 가지 다양한 시도가 행해졌는데, 그중 스텐트 표면을 고분자 생체재료로 처리하여서 혈전형성을 막고 신생내막 증식에 의한 스텐트 재협착을 억제하려는 시도와 관상동맥 파열시 스텐트 그라프트를 사용하려는 시도가 있었으나,[10-12] 아직까지 만족할 만한 결과는 없었다. 기존의 고분자는 임상에서 인조혈관으로 많이 사용되고 있는 생체재료이지만 4 mm 이하의 작은 구경을 가진 동맥에서의 사용에는 보다 향상된 혈액적합성이 요구된다. 따라서 본 연구에서는 hydroxybutyl acrylate(HBA)로부터 유도된 HBA choline 비닐 단량체를 합성한 후, 인조혈관 재료인 Dacron, GoreTex 및 Teflon의 표면에 직접 그라프트 중합으로 고정하여 혈액적합성을 향상시켰다. 개질된 그라프트를 두 개의 금속 스텐트 사이에 삽입하여 스텐트 그라프트를 제작하였고, 돼지의 관동맥 과확장 동물 모델을 이용하여 생체 적합성을 조사하였다.

재료 및 방법

고분자 이식편의 선정 및 표면 개질화

고분자 이식편 선정

인조혈관의 재료로 Dacron(polyethylene terephthalate, BARD, Tempe, Arizona, USA), GoreTex (polytetrafluoroethylene, Gore-Tex, Flagstaff, Arizona, USA), 그리고 Teflon(polytetrafluoroethylene, Boston Scientific, Wayne, Newjersey, USA)을 구입하여 사용하였다.

표면 개질화 방법

시약 및 장비

시 약

HBA choline의 합성을 위해 1, 4-butandiol acryloyl chloride, triethylamine(TEA)과 2-chloro-1, 3, 2-dioxaphosphorane-2-oxide는 Aldrich Chemical Company(Milwaukee, Wisconsin, USA)에서 구입하여 정제 없이 사용하였으며 용매로서 tetrahydrofuran (THF : Duksan Pure Chemicals, Korea)은 $MgSO_4$로 수분을 제거한 후 사용하였다. Peroxide를 정량분석하기 위한 2, 2-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical과 DMSO(dimethyl sulfoxide), 효소정량 실험을 위한 Triton®X-100과 pyruvic acid는 Aldrich Chemical Company에서 구입하였다. NADH(β-nicotinamid adenine dinucleotid)는 Sigma-Aldrich Chemicals(St. Louis, Missouri, USA)에서 구입하여 사용하였다.

장 비

플라즈마장비는 RF generator(RFX-600, ADVANCED ENERGY, Germany)와 압력 계기(MKS baratron®, Andover, Massachusetts, USA), 유리관 반응조, 유량조절 밸브 등을 Fig. 1과 같이 조립하여 사용하였으며, 오존처리 장치는 ozone 발생기(Lab2B, Ozonia, Korea)를 이용하였다(Fig. 2). 표면 처리된 재료의 분석장비로 Electron spectroscopy(ESCA 2000, VG microtech, UK)와 UV/VIS spectrometer(UNICAM UV 100, Waltham, MA, USA)를 이용하였으며, 생체외

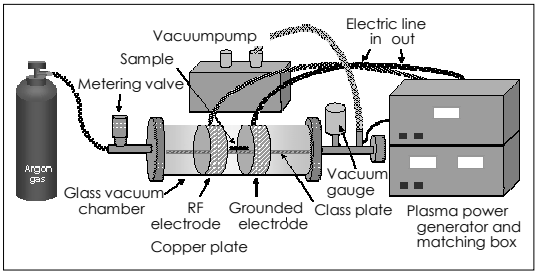

Fig. 1. The apparatus for plasma treatment of polymers.

혈액적합성 평가는 주사전자현미경(scanning electron microscopy : SEM, Hitachi S-2400, Tokyo, Japan)으로 수행하였다.

HBA choline 단량체 합성

HBA choline은 Fig. 3과 같이 크게 세 단계를 통해 합성하였다. 첫 번째 단계로, 0.5 몰의 1, 4-butandiol과 0.5 몰의 triethylamine을 용매인 THF에 함께 혼합한 후 여기에 0.5 몰 acryloyl chloride를 질소 환경에서 천천히 떨어뜨려 상온에서 5시간 동안 격렬하게 교반반응을 시켰다. 그 다음 반응액을 여과하여 부반응물을 제거하고 용매를 증발시킨 후 n-hexane 용매로 수 차례 세척하여 hydroxybutyl acrylate를 제조하였다. 그 다음 단계로, HBA와 pyridine을 동일한 몰 비로 용매인 THF에 섞은 다음, 다시 동일한 몰 비로 2-chloro-1, 3, 2-dioxaphosphorane-2-oxide를 서서히 점적하여 4시간 동안 상온에서 교반시켜 2-HBA-chloro-1, 3, 2-dioxaphosphorane-2-oxide를 합성하였다. 이 반응 역시 질소환경에서 수행하였고 반응 후 부산물을 여과 및 제거하였다. 마지막으로 2-HBA-chloro-1, 3, 2-dioxaphosphorane-2-oxide와 TEA를 동일한 몰 비로 acetonitrile에 함께 녹인 다음 65℃에서 35시간 동안 교반반응 시켰고, 반응이 끝난 후 acetone으로 수 차례 세척하여 흰색 침전물인 HBA choline을 얻었다. 이를 진공건조기에서 하루이상 완전히 건조시켜 최종 반응물을 제조하였다.

Plasma 및 UV ozone 처리

Dacron, GoreTex 및 Teflon을 3×4 cm 크기로 잘라서 에탄올에 담가 초음파세척기를 이용하여 세척한 후 완전히 건조시켰다. 플라즈마 처리는 0.2 torr 압력에서 알곤 기체를 사용하고 전압은 30~120 W까지, 처리시간은 5초, 10초, 20초, 그리고 40초까지 변화시켰다. 모든 시료는 앞면과 뒷면을 각각 처리하였다. 처리된 시료가 공기 중에 노출되면 표면에 peroxide나 hydroperoxide 등의 작용기들이 생성되며 이 작용기를 반응의 개시 점으로 사용하였다. Fig. 4에 플라즈마 처리에 대한 모식도를 나타내었다. 오존처리는 오존 발생기에서 나오는 연결관에 UV를 노출시켜서 활성화된 오존을 이용하는 방법으로써, UV ozone(UVO)로 명명하였다(Fig. 2). 오존 발생기에 산소를 주입하여 2~3%(V/V)의 오존을 함유하는 산소(O_3/O_2)를 얻었으며, 유속은 50 L O_2/hr로 일정하게 유지하면서 상온 반응조에서 90분간 처리하였다. 90분까지는 표면에 형성된 peroxide의 양이 서서히 증가하지만 그 이상에서는 증가하지 않았으므로 처리시간은 90분으로 고정하였다.

플라즈마 및 오존처리로 형성된 peroxide는 DPPH radical을 이용하여 정량분석 하였다. 이는 DPPH radical을 형성된 peroxide와 반응시켜 소모된 DPPH radical의 양으로부터 peroxide의 양을 알아내는 방법이

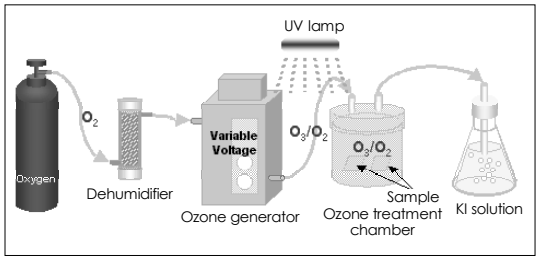

Fig. 2. The apparatus for ozone oxidation of polymers.

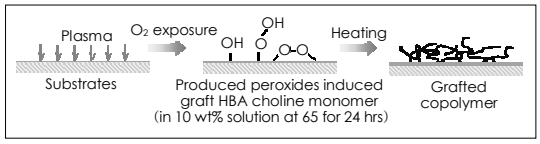

Fig. 4. Schematic presentation of polymer surface modification by plasma treatment and HBA choline grafting induced by peroxides.

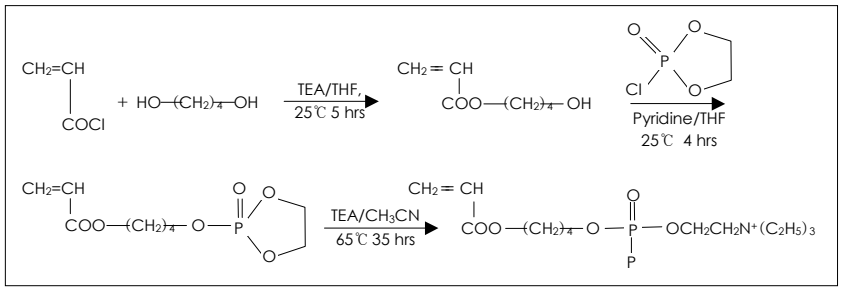

Fig. 3. Chemical equation for synthesis of hydroxybutyl acrylate choline. TEA : triethylamine, THF : tetrahydrofuran.

다. DPPH를 차광조건 하에서 정제된 DMSO에 1.0×10^{-4} mol/L의 농도로 질소를 주입하면서 녹인 다음, 3 mL씩 취하여 동일한 크기로 자른 각각의 시료를 담가 70℃에서 6시간동안 반응시켰다. 반응 종료 후 UV/VIS spectrometer로 520 nm의 영역에서 DPPH의 흡광도를 측정하였다. 이렇게 측정한 흡광도와 대조군, 즉 처리를 하지 않아 peroxide가 없는 물질에서의 흡광도의 차이가 소비된 DPPH의 양으로서 형성된 peroxide의 양과 같다. 미리 농도 별로 준비한 5가지의 DPPH용액의 흡광도를 이용한 표준곡선을 이용하여 해당 흡광도에 대한 농도를 측정하였다. Teflon tape는 너비 방향으로 수배이상 연신이 가능하므로 연신 상태로 플라즈마 처리를 한 후 표면에 그라프트 중합을 실시하였다. 연신은 원래크기의 1.5배, 2배, 3배로 다양하게 하였고 (Fig. 5), 플라즈마 처리는 이미 정해진 기체 및 압력 조건으로, 전압은 50 W와 100 W로, 처리시간은 10초와 30초로 각각 수행하였다. Stainless steel봉은 눌러서 2 mm너비의 조각으로 납작하게 만들어 사용하였으며, 아세톤에 담가 초음파세척기로 세척한 후 완전히 건조시켜서 사용하였다.

HBA choline 그라프트 중합

플라즈마 및 오존 처리로 반응점을 형성시킨 시료를 10% ethanol에 녹아있는 HBA choline 단량체 용액에 담가 65℃에서 12시간 동안 그라프트 중합시켰다. 반응이 종료되면 시료를 증류수로 수 차례 세척한 후 완전히 건조시켜 사용하였다. 중합된 재료의 표면은 electron spectroscopy for chemical analysis(ESCA) 방법으로 HBA choline의 도입여부 및 양을 측정하였다. ESCA의 X-ray source로는 MgKα에서 나오는 것을 이용하였고 시료 챔버 안의 압력은 3×10^{-7} mbar까지 낮추었다. Take-off angle은 60°로 하였으며, 0~1000 eV까지 survey scan을 시행하여 표면의 원소조성을 알아보았고 C1s, O1s, N1s, P2p의 각 원소별로 narrow scan을 실시하였다.

생체외 혈액적합성 검사

표면개질한 시료의 생체외 혈액적합성 검사는 주사전자현미경과 효소정량법을 이용한 혈소판 정착측정으로 수행하였다. 시료를 지름 1.2 cm의 원형으로 절단한 후 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4)에 담가 12시간 동안 수화시켰다. 이때 동일한 시료를 2개씩 준비하였다. 각각의 시료를 주사기에 넣고 사람의 혈액에서 분리한 platelet rich plasma와 platelet poor plasma를 2 mL씩 채워 넣은 다음, 37℃에서 3시간 동안 반응시킨 후 혈액을 제거하고 PBS 용액으로 부드럽게 세척하였다. 그런 다음 한가지 시료는 2.5%의 glutaraldehyde로 5시간동안 고정화시킨 다음 50%에탄올부터 10%씩 농도를 증가시키면서 각각 10분씩 방치하여 서서히 탈수시켰다. 100% 에탄올에 담갔다가 꺼내어 완벽히 건조시킨 후 주사전자현미경을 이용하여 혈소판의 점착정도 및 활성화된 형태를 관찰하였다. 나머지 다른 시료는 효소정량법을 이용 혈소판의 점착 상태를 측정하였다. 즉 PBS로 일차 세척한 다음, 1%(v/v) triton X-100이 포함된 PBS 용액으로 시료의 표면에 붙어있는 혈소판을 제거하였다. 그 다음 0.5 mL의 pyruvic acid와 0.5 mL의 0.18 mM NADH를 첨가하여 37℃에서 1시간동안 반응시켰다. 반응이 끝나면 PBS로 희석하여 UV/VIS spectrometer를 이용 340 nm의 영역에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 시료표면에 결합한 혈소판의 lactate dehydrogenase(LDH)의 양에 해당한다.

스텐트 그라프트의 제조

두 개의 금속 스텐트 사이에 항혈전성 그라프트 재료를 삽입한 형태의 그라프트 스텐드를 제작하였다(Fig. 6). 제작된 스텐트 그라프트는 풍선도자 압축기를 이용

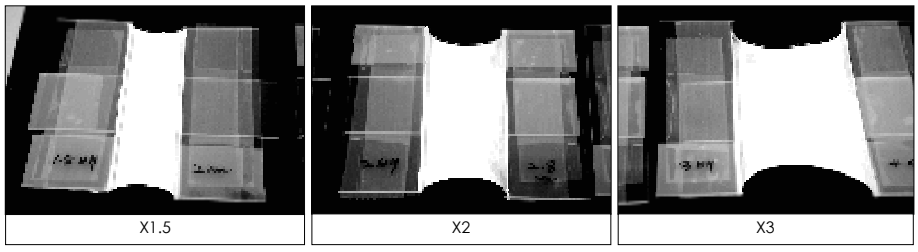

Fig. 5. Expanded Teflon tape.

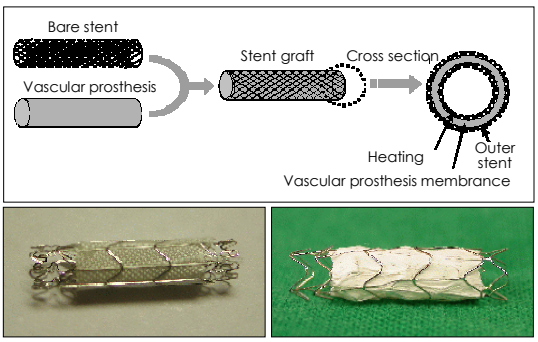

Fig. 6. Schematic images of stent-graft construction (above) and real images of polymer stent-grafts (below).

하여 풍선도자에 고정시킨 후 사용하였다.

돼지 관상동맥 과확장 모델을 이용한 생체내 검사

실험 동물 및 장비

동물실험은 연세의료원 동물실험연구소 윤리위원회의 허가를 받아 실시하였다. 실험용 동물은 무게 25~30 Kg의 순종돼지를 시술 4일 전에 공급받아 관찰한 후 실험에 이용하였다. 실험 종료 후에도 4주간 사육실에서 실험동물을 관찰하였다. 호흡마취기계는 Drager anesthetic machine 및 ventilator를 사용하였고 실험동물의 혈압, 호기내 이산화탄소 농도, 그리고 심전도를 측정하기 위해서 Hewlett Packard patient monitor시스템을 이용하였다. 전신 마취는 enfluran을 이용하였다.

실험 방법

실험할 돼지는 시술 3일전부터 500 mg의 아스피린과 500 mg의 티클로피딘으로 전처치하였다. 시술 전날 밤 12시부터 금식시킨 후 ketamine 12 mg/kg와 xyl-azine 8 mg/kg을 이용하여 마취를 유도하며 기도삽관 후 전신마취 하였다. 무균 상태로 목의 정중앙선을 절개하여 좌 혹은 우 경동맥을 절개 후 8.5 French(F) 동맥 sheath를 삽입하였다. 시술 중 헤파린은 10,000 IU를 사용하였다. 휴대용 fluoroscope를 이용하여서 8 F 유도도관을 상행대동맥으로 위치시킨 후 좌, 우 관상동맥의 개구부에 위치시켰다. 실험도중 지속적으로 혈압, 맥박, 호기내 이산화탄소 농도를 측정하여 돼지의 상태를 관찰하였다. 귀의 정맥을 통하여 식염수를 주입하고 필요한 약물도 투여하였다. 스텐트 그라프트 삽입은 관상동맥 조영술상 혈관직경이 3.0 mm에서 3.5 mm 정도인 좌전하행지 혹은 우관상동맥에 삽입하였는데, 풍선으로 확장시킨 스텐트와 기준 혈관의 직경이 1.1 : 1의 비율이 되도록 풍선을 선정한 후 관상동맥에 삽입하였다. Dacron 스텐트-그라프트, GoreTex 스텐트-그라프트, 그리고 Teflon 스텐트-그라프트는 각각 6마리의 돼지에서 삽입하였다. 풍선은 18기압 정도로 20초간 확장했으며 스텐트 그라프트 삽입술이 끝난 후에 혈관 조영술을 시행하여 스텐트 그라프트가 삽입된 혈관의 과팽창 유무와 혈관의 개방 여부를 확인하였다. 시술 후 모든 유도도관과 sheath를 제거한 후 경동맥은 결찰하고 피하조직과 피부를 봉합하였고, 시술 후 4주간 아스피린과 티클로피딘을 계속 사용하였다.

추적 관상동맥 조영술 및 병리조직 검사법

4주 후 같은 방법으로 마취하고 추적 관상동맥 조영술을 시행했으며 추적 관상동맥 조영술은 처음 시술할 때와 같은 기구를 사용하여 같은 각도로 촬영하였다. 모든 관상동맥 조영술은 비디오 테이프로 녹화한 후 분석하였다. 조영술 후 실험동물은 KCl(3 g/2 mL) 1 mL/kg을 IV하여 심정지를 유도하였다. 적출한 심장은 즉시 10% formalin을 이용하여 12시간 동안 100 mmHg의 압력으로 perfusion fixation을 하였다. 고정시킨 돼지 심장에서 스텐트그라프트가 삽입되어 있는 관상동맥을 날카로운 칼로 정상부위가 포함되도록 잘라내었다. 이 절편을 ethylmethacrylate(Energy Beam Sciences, Agawarm, Massachusetts, USA)을 이용하여 단단하게 처리한 후 텅스텐 칼(Energy Beam Sciences)로 근위부부터 원위부까지 스텐트가 조직에 박혀있는 그대로 10개의 절편을 만들었다. 만들어진 절편을 Hematoxyline-Eosin 및 Lawsons elastic van Gieson 염색법으로 염색을 하여 조직검사를 시행하였다.

결 과

고분자 이식편의 표면 개질화 결과

HBA choline 단량체 합성

HBA choline 단량체 합성 단계별 중간물질 세 가지를 Fourier transform infrared spectrometer(FTIR)를 이용 분석하였다(Fig. 7). 즉 첫 번째 HBA의 spectra에서는 ester의 C=O stretch(1716 cm^{-1}), ester의 C-O stretch(1196,1054 cm^{-1}), alkane의 sp2

C−H stretch(3000~3100 cm^{-1}), alkane의 sp^3 C−H stretch(2850~3000 cm^{-1}), OH stretch(3373 cm^{-1})를 확인할 수 있으며, 이것으로 HBA가 합성되었음을 확인하였다(Fig. 7A).

두 번째 2−HBA−chloro−1, 3, 2−dioxaphosphorane−2−oxide의 spectra에서는 첫 번째 단계에서 넓고 크게 존재하던 OH stretch(3373 cm^{-1})의 peak가 사라지고, 새로운 P=O stretch(1270 cm^{-1}), P−O stretch(755 cm^{-1}), P−C stretch(920~1088 cm^{-1})를 확인할 수 있는데, 이는 2−chloro−1, 3, 2−dioxaphosphorane−2−oxide가 HBA에 결합되었음을 나타내는 것이다. 또한, HBA의 ester C−O stretch와 P−C stretch가 거의 같은 위치에서 겹쳐 나와 peak intensity가 증가하였고 넓어지고 완만해졌음을 알 수 있었다(Fig. 7B).

세 번째, HBA choline의 spectra에서는 2−HBA−chloro−1, 3, 2−dioxaphosphorane−2−oxide가 triethylamine과 반응에서 특징적으로 나타나는 triethtyl amine의 CH_2 bend(1476 cm^{-1})와 CH_3 bend(1390 cm^{-1}), 1035 cm^{-1}에서의 C−N stretch도 확인하였다(Fig. 7C).

이와 같은 각 과정의 특성 peak를 통해, HBA choline monomer의 합성을 확인하였다.

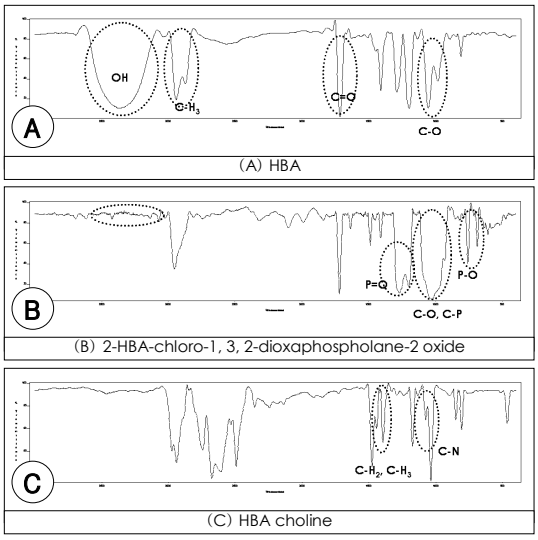

Fig. 7. FTIR spectra of HBA, 2-HBA-chloro-1, 3, 2-dioxapholane-2 oxide and HBA choline monomer for verifying the chemical structure. FTIR : Fourier transform infrared spectrometer, HBA : hydroxybutyl acrylate.

재료의 표면에 도입된 peroxide 분석

Dacron과 GoreTex에 전압을 30 W에서 120 W까지 변화시켜서 플라즈마를 처리한 후, HBA choline을 중합하여 ESCA로 중합여부를 판단하였다.

그 결과, 30 W에서는 전혀 처리되지 않았고, 60 W에서는 매우 소량 중합되었으며, 90 W에서 가장 많이 중합되었다. 그러나, 120 W에서는 오히려 중합율이 떨어짐을 확인하였다. 이는 120 W 이상의 고전압에서는 고분자 재료에 형성된 peroxide가 분해되기 때문이다. 그리하여 다음 실험에서는 플라즈마 전압을 100 W로 고정시키고, DPPH radical을 이용하여 처리 시간에 따른 peroxide의 형성 정도를 알아보았다.

먼저, 각각의 재료를 DPPH와 동일한 농도의 5가지 용액으로 제조한 후 UV 520 nm에서 흡광도를 측정하여 검정곡선을 만들었다. 다음으로, 처리하지 않은 대조군과 각각의 방법으로 처리한 시료들을 DPPH 용액에 반응시켜, 위와 동일한 UV 영역에서 흡광도를 측정한다(Fig. 8, 9). 이렇게 측정한 대조군의 흡광도 값과 해당 시료의 흡광도 값의 차이로 형성된 peroxide 양을 산출하는데, 이는 DPPH가 소비된 양과 동일하다. Table 1은 대조군과 실험군의 흡광도 차이를 농도(mol/L)와 단위 면적대 농도(mol/cm^2)로 환산한 결과이다.

Dacron 표면의 peroxide 정량

Dacron에 플라즈마를 처리한 결과, 10초까지는 pe-

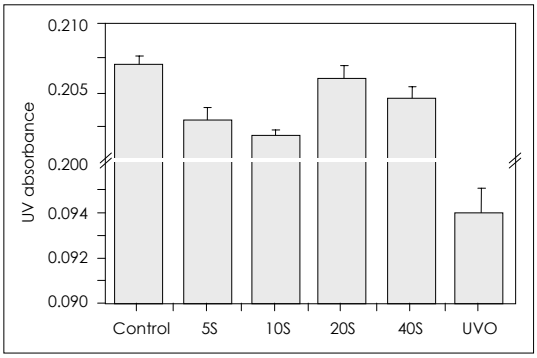

Fig. 8. UV absorbance of DPPH (2, 2-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical at 520nm in the Dacron graft. The difference of UV absorbance between control and each modified polymer is correlated with the quantity of produced peroxide. UVO treatment showed the largest amount of peroxide formation. UVO : UV ozone, S : second.

roxide의 도입 양이 증가하다가 20초가 지나면 다시 감소하는 것을 관찰하였다. 이는 플라즈마 처리시 100 W에서 20초 이상 처리할 경우(100W-20S), 형성된 peroxide가 분해되는 것으로 사료된다. UVO를 처리하였을 경우에는 이에 비해 20배 이상 형성된 것을 확인하였다.

이것으로 Dacron의 경우, UVO가 플라즈마보다 표면의 peroxide 형성에 훨씬 효과적임을 알 수 있었다(Fig. 8) (Table 1).

GoreTex 표면의 peroxide 정량

GoreTex는 플라즈마를 20초간 처리한 경우가 가장 많은 양의 peroxide가 형성되었다. 나머지 시료에서는 거의 비슷한 수준으로 처리되었다. 그러나, 40초간 처리한 경우에는 다시 감소하였는데 이는 Dacron과 마찬가지로 형성된 peroxide가 분해된 것으로 보인다. 이에 반해, GoreTex의 UVO 처리 후 형성된 peroxide는 플라즈마와 비슷한 수준으로 관찰되었다(Fig. 9) (Table 2).

Table 1. Amount of formed peroxide (Dacron)

	Formed peroxide ($\times 10^{-6}$ M)	Peroxide conc. ($\times 10^{-9}$ mol/cm^2)
100 W-5 S	00.4	0.30
100 W-10 S	00.5	0.37
100 W-20 S	00.1	0.07
100 W-40 S	00.3	0.22
UVO	10.3	7.72

UVO : UV ozone, conc. : concentration

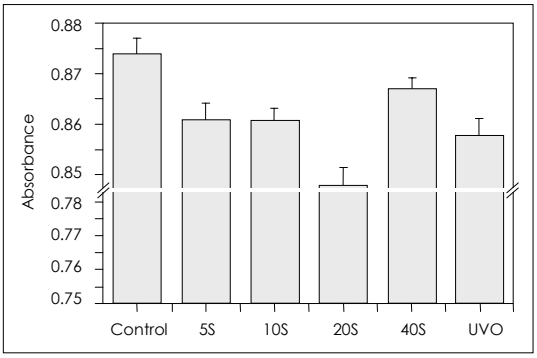

Fig. 9. UV absorbance of DPPH (2, 2-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical at 520 nm in the GoreTex graft. The difference of UV absorbance between control and each modified polymer is correlated with the quantity of produced peroxide. Plasma treatment for 20 seconds showed the largest amount of peroxide formation. Abbreviation as in Fig. 8.

HBA choline을 표면에 그라프트 중합시킨 표면의 분석

ESCA를 이용한 표면의 원소분석으로 HBA choline의 표면중합 여부 및 정도를 측정하였다. Dacron, Gore-Tex, Teflon tape 및 stainless steel은 공통적으로 분자구내에 C(탄소)를 가지고 있으며, HBA choline에 존재하는 P(인)은 함유하지 않는다. 그러므로, 그라프트 중합시킨 시료에서 나온 P는 HBA choline에서 나온 것으로 볼 수 있다. 이것으로 중합정도를 C의 함량에 대한 P의 함량의 비(P/C ratio) 또는 전체 원소에 대한 P의 atomic %로 표현한다. Table 3~5는 각 재료별로 계산된 P/C ratio와 P의 atomic %를 나타낸 것이다. 여기서 Control은 아무 것도 처리하지 않은 상태에서 ESCA를 측정한 것이다.

Dacron

Table 3에서, 플라즈마를 처리한 경우에는 처리 시간에 상관없이 비슷한 수준으로 HBA choline이 중합되었으나, UVO로 처리한 경우에는 3배 이상 많은 양이 도입되었음을 알 수 있다. 이를 통하여, peroxide가 많이 형성되면 HBA choline도 많이 중합되나, peroxide가 너무 많이 형성되면 중합시 개시점이 많아져 분자량이 크게 자라지는 못하기 때문에 peroxide의 양이 20배 증가하여도 중합율이 20배가 증가하지는 않는다.

Table 2. Amount of formed peroxide (GoreTex)

	Formed peroxide ($\times 10^{-6}$ M)	Peroxide conc. ($\times 10^{-9}$ mol/cm^2)
100 W-5 S	1.1	0.18
100 W-10 S	1.1	0.18
100 W-20 S	1.4	0.23
100 W-40 S	0.6	0.10
UVO	1.3	0.22

UVO : UV ozone, conc. : concentration

Table 3. Amount of grafted HBA choline on the dacron surface

	P / C ratio	P-2p (%)
Control	0.000	0.00
100 W-5 S	0.020	0.73
100 W-10 S	0.022	0.80
100 W-20 S	0.022	0.77
100 W-40 S	0.021	0.75
UVO	0.050	2.61

HBA : hydroxybutyl acrylate, UVO : UV ozone, P : phophorus, C : carbon

GoreTex

플라즈마 처리 20초에서 가장 높은 중합율을 보이는데, 이는 peroxide의 형성 양과 동일한 결과이다. 또한 40초 처리 시에는 앞서 시행한 원소분석 결과와 동일하게, 중합율이 약간 감소하는 경향을 나타내는데 이는 형성된 peroxide가 분해되어 감소된 만큼 중합율도 감소한 것이다. UVO 처리 경우에도 플라즈마 처리와 큰 차이가 없었다(Table 4).

Teflon tape

Table 5는 2배 연신(expansion)시킨 Teflon tape에 대한 결과이다. 중합 후 다소 수축되었으나 연신 시키기 전의 상태로는 돌아가지 않았다. 플라즈마 50 W와 100 W 모두에서 처리 시간이 짧은 경우의 HBA choline 중합율이 더 높았고, 50 W에서 10초 처리한 경우 가장 높았으며, 100 W에서 30초 처리한 경우가 가장 낮았다.

결과적으로 플라즈마의 전압을 높이는 것과 마찬가지로, 처리 시간을 증가시키면, 형성된 peroxide가 분해되어 중합율을 낮추는 원인임을 알 수 있었다. 또한 Teflon tape의 경우 플라즈마 전압간의 중합율 차이는 없었다.

1.3종합적으로, 플라즈마 처리 조건은 각각의 재료

Table 4. Amount of grafted HBA choline on the goretex surface

	P / C ratio	P-2p (%)
Control	0.000	0.00
100 W-5 S	0.022	1.33
100 W-10 S	0.035	2.08
100 W-20 S	0.072	3.98
100 W-40 S	0.026	1.57
UVO	0.028	1.84

HBA : hydroxybutyl acrylate, UVO : UV ozone, P : phophorus, C : carbon

Table 5. Amount of grafted HBA choline on the teflon tape surface

	P / C ratio	P-2p (%)
Control	0.000	0.00
50 W-10 S	0.020	1.31
50 W-30 S	0.020	1.09
100 W-10 S	0.025	1.22
100 W-30 S	0.005	0.34

HBA : hydroxybutyl acrylate, P : phosphorus, C : carbon

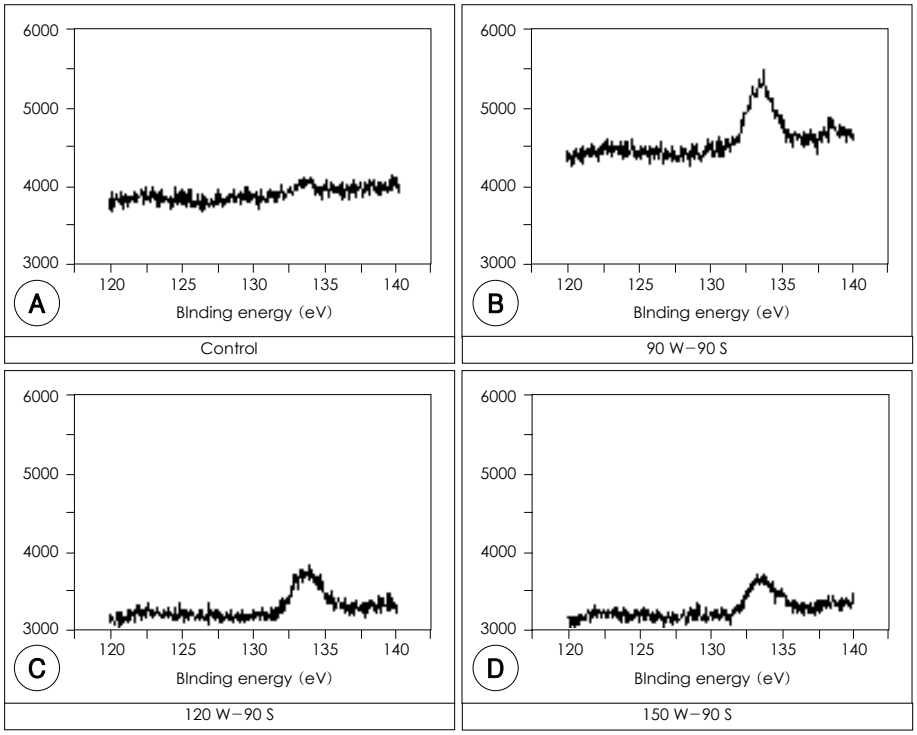

Fig. 10. Electron spectroscopy for chemical analysis of stainless steel. The largest amount of HBA choline was synthesized under 90 W-90 S condition.

에 따라 그 최적의 조건이 다르며, 전압이나 처리 시간이 적정 수준을 벗어나면, 형성된 peroxide가 분해되어 HBA choline의 중합율이 떨어진다.

Stainless steel

Fig. 10에서 (A)는 아무 것도 처리하지 않은 control, (B)는 플라즈마 전압 90 W에서 90초 처리, (C)는 120 W에서 90초 처리, (D) 150 W에서 90초 처리 후 HBA choline을 중합시키고 P를 narrow scan하여 측정한 각각의 ESCA spectra이다. Control에 없던 P−2p의 peak가 플라즈마 처리로 생성되었고, 90W로 처리한 경우 peak 면적이 가장 큰 것을 알 수 있다. Stainless steel도 플라즈마 전압이 너무 높으면 peroxide의 양이 감소한다.

생체외 혈액적합성 평가

효소정량법을 통한 Dacron과 GoreTex의 혈소판 점착 평가

플라즈마 및 오존처리로 HBA choline을 그라프트 중합시킨 Dacron은 처리를 하지 않은 시료에 비해 매우 낮은 흡광도를 나타내었는데, 이는 HBA choline이 처리된 표면에 혈소판 점착이 많이 감소한 것으로 판단된다. 시료들간에 커다란 차이는 없지만, UVO와 플라즈마를 5초 처리한 시료에서 비교적 더 낮은 혈소판 점착을 나타내었다(Fig. 11).

GoreTex의 경우 Dacron과는 달리 표면처리로 인한 혈소판 점착 억제 효과가 크지 않은 것처럼 나타났다. 그러나, 거의 모든 시료가 control보다는 적은 양의 혈소판 점착을 보였으며, 특히 20초 플라즈마 처리한 시료는 비교적 높은 혈소판 점착 억제효과를 나타내었다(Fig. 11).

SEM을 통한 Dacron과 GoreTex의 혈소판 점착 평가

Dacron

아무 것도 처리하지 않은 시료인 control의 표면에는 혈소판이 전체적으로 응집되어 있었다. 이에 반해 HBA choline이 중합된 표면의 경우 control에 비해 혈소판의 점착이 매우 억제되었음이 관찰되었다. 플라즈마를 5초에서 20초까지 처리한 경우는 거의 비슷하게 혈소판 점착이 감소하였으며, 40초 처리한 경우는 혈소판이 더 많이 점착되었다. 이는 이전의 다른 결과들과 마찬가지로, 소량의 HBA choline만이 표면에 도입되기 때문에 나타나는 것으로 판단된다. 또한 UVO 처리 후 가장 적은 혈소판 점착을 나타내었다(Fig. 12).

GoreTex

GoreTex의 경우 전체적으로 Dacron보다 control에서부터 적은 양의 혈소판이 점착되어있다. Control에서 군데군데 혈소판이 달라붙어 있는 것이 보이고 플라즈마 5초와 10초 처리한 시료는 control보다는 줄어들었지만 군데군데에서 가끔씩 혈소판이 눈에 띈다. 플라즈마 40초 처리한 시료와 UVO 처리한 시료에서도 거의 혈소판이 달라붙지 않은 모습을 볼 수 있었다. 플라즈마 20초 처리한 시료에서는 혈소판이 전혀 달라붙지 않은 깨끗한 표면을 보이며 다른 앞선 결과들과 종합하여 GoreTex의 가장 우수한 처리 조건으로 판단할 수 있었다(Fig. 13).

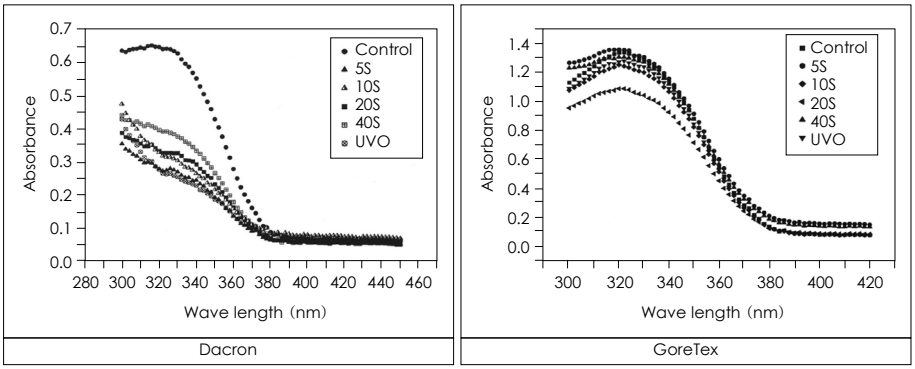

Fig. 11. UV absorbance of LDH complex of Dacron and at 340 nm wavelength. Dacron with UVO treatment had lesser UV absorbance than other conditions. In GoreTex, specimens with 20 second plasma treatment was the best. LDH : lactate dehydrogenase.

돼지 관상동맥 과확장 모델을 이용한 생체내 검사

Dacron 스텐트-그라프트, GoreTex 스텐트-그라프트, Teflon 스텐트-그라프트를 각각 6마리의 돼지에 성공적으로 삽입하였다. 그러나, Dacron 스텐트-그라프트와 GoreTex 스텐트-그라프트를 삽입한 돼지는 모두가 성공적인 시술 후 48시간 이내에 사망하였다. 사망원인을 알기 위해서 부검을 실시한 결과, 사망한 2마리의 관상동맥 내에서 급성 혈전이 발견되었고 그 하방의 혈관은 혈전에 의해서 막혀 있음이 관찰되었다(Fig. 14). 스텐트 그라프트 내의 혈전 생성이 사망 원인인지를 정확히 밝히기 위해 4마리의 돼지의 좌, 우 신동맥에 동일한 스텐트-그라프트를 삽입하고 2주, 4주 후 혈관조영술을 시행하여 스텐트-그라프트 내에 발생한 혈전을 혈관조영술로 정확히 확인할 수 있었다(Fig. 15).

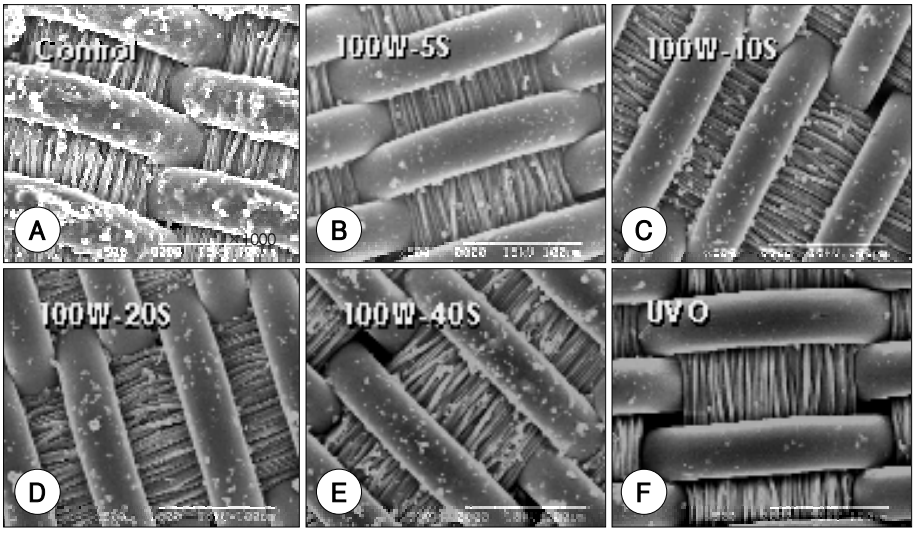

Fig. 12. SEM images of platelet adhesion on unmodified Dacron (control) and HBA choline-grafted Dacron under different conditions (b-f). The least platelet adhesion was noted on UVO-treated HBA choline-grafted Dacron. SEM : scanning electron microscopy, HBA : hydroxybutyl acrylate.

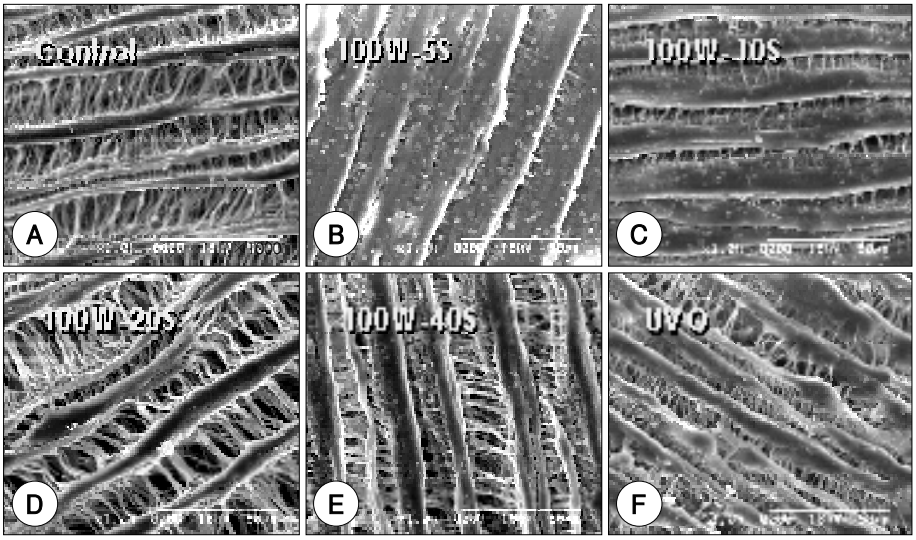

Fig. 13. SEM images of platelet adhesion on unmodified GoreTex (control) and HBA choline-grafted GoreTex under different conditions (b-f). The least platelet adhesion was noted on 100 W-20 S plasma-treated, HBA choline-grafted GoreTex. SEM : scanning electron microscopy, HBA : hydroxybutyl acrylate.

Teflon 스텐트-그라프트를 삽입한 돼지 여섯 마리 중 다섯 마리가 4주까지 생존하였다. 한 마리의 돼지는 실험 18시간 후 급사하였다. 생존한 5마리 돼지의 우관상동맥에 스텐트 그라프트를 삽입하였다(Fig. 16). 스텐트 그라프트 삽입 4주 뒤 추적 관상동맥 조영술을 두 번째 시행한 돼지의 관상동맥은 만성 완전폐쇄 소견을 보였고(Fig. 17A), 나머지 4마리 돼지의 관상동맥은 개방된 소견을 보였다(Fig. 17B, C). 다음으로 스텐트 그라프트가 삽입된 혈관의 신생내막증식의 여부 및 그 정확한 정도를 파악하기 위하여 세 마리 돼지에서 혈관내 초음파를 실시하였다. 혈관내 초음파를 통해 신생내막은 일정하게 혈관내에 생성되었고, 관상동맥내 혈전은 관찰되지 않았으며, 스텐트 그라프트 전체가 신생내

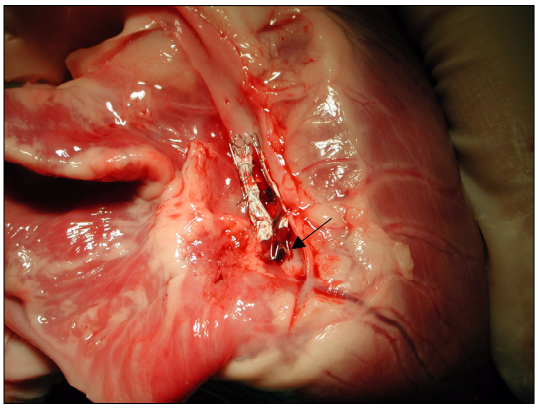

Fig. 14. Acute stent-graft thrombosis in the pig coronary artery (arrow).

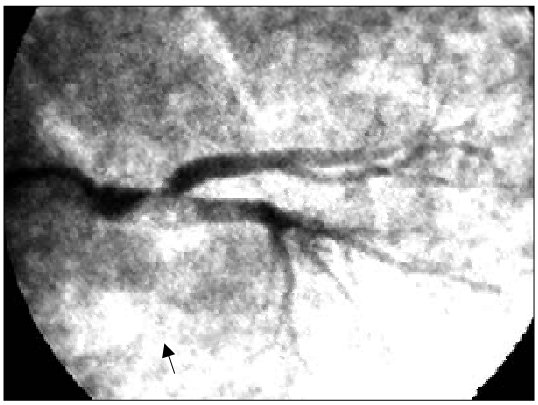

Fig. 15. Renal angiography revealed thrombosis within the stent-graft (arrow).

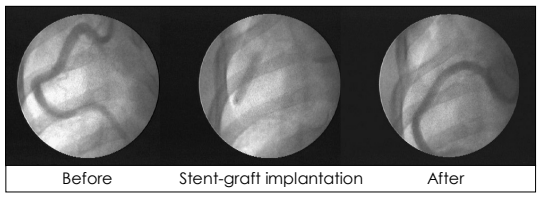

Fig. 16. Implantation of a stent-graft at the pig right coronary artery.

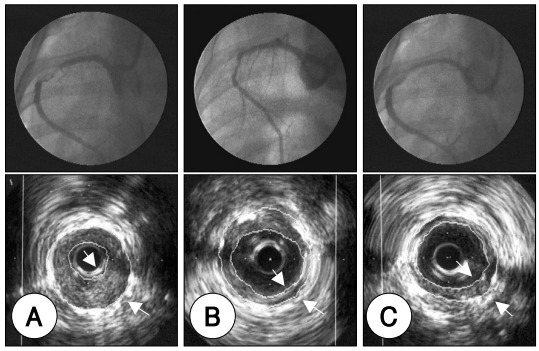

Fig. 17. Follow-up coronary angiography (upper panel) and intravascular ultrasound (IVUS) images of the most stenotic lesion within the implanted stent-grafts (lower panel) at 4 weeks. Coronary angiography revealed near total occlusion due to neointima (between two arrows) proliferation (A) and patent stent-graft (B, C). IVUS showed that stent-grafts were fully expanded and covered with neointima in the lumen.

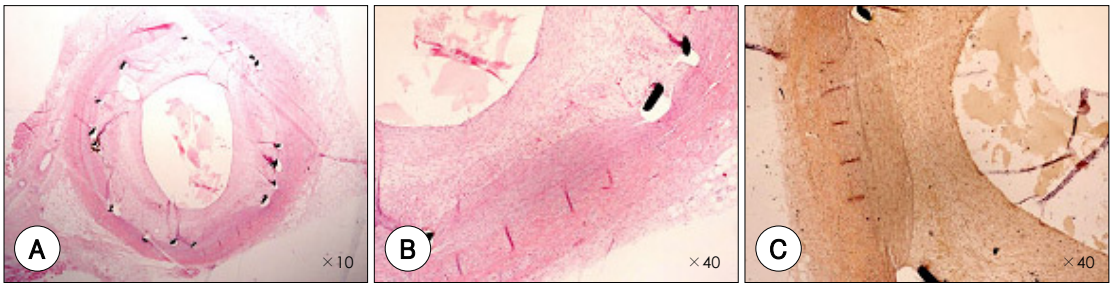

Fig. 18. Histologic evaluation of Teflon stent-graft 28 days after stent graft implantation. Hematoxylin-Eosin staining (A, B) and Lawsons elastic van Gieson staining (C). A neointimal layer covers the stent-graft from the lumen.

막에 잘 싸여있는 것을 알 수 있었다(Fig. 17). 4주 후 혈관조영술을 마친 돼지의 스텐트 그라프트가 삽입된 관상동맥을 조직학적으로 검사를 한 결과, Teflon 그라프트는 형태학적으로 완전한 모양을 유지하면서 스텐트 그라프트 전체가 완전히 내막으로 둘러싸여 있음이 관찰되었다. 만성 염증 반응 세포는 발견되지 않았으며, 신생내막은 주로 결합조직으로만 구성되어 있는 것을 발견하였다(Fig. 18).

고 찰

관상동맥 스텐트는 재협착을 줄일 수 있는 좋은 치료법으로 임상에서 많이 사용되고 있다.[5)6)] 그러나, 혈관 수축에 의한 재협착은 어느 정도 줄일 수 있지만, 신생내막 증식에 의한 재협착에는 효과가 별로 없거나 오히려 나쁜 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 이러한 신생내막 증식을 줄여보기 위한 여러 가지 다양한 연구가 시도되고 있으나 아직까지 만족할 만한 결과를 보이는 것은 없다.[13-18)] 스텐트 재협착은 체내에 삽입된 스텐트와 혈액이 접촉하여 수분 내에 스텐트 표면에 혈장단백질, 혈소판, 백혈구, 적혈구 등이 순차적으로 점착되는 일련의 과정에 의해 혈전이 형성되어 일어나는 것이다. 혈전 형성은 처음에 흡착된 단백질 층의 특성과 조성에 의하여 영향을 받기 때문에 이 단계에서 단백질의 흡착을 방지한다면, 이어지는 다음 과정에 의한 혈액응고를 막을 수 있다.

초기의 단백질 흡착방지는 혈액적합성 재료의 특성을 좌우할 정도로 중요한 요인이 되며, 이에 대한 연구가 다양한 각도에서 진행되어왔다. 그 예로, 인지질로 구성된 생체막의 표면은 혈장 단백질 및 세포와 상호작용을 하지만 흡착하거나 활성화하지 않는다는 점에 착안하여, 인공적으로 합성한 인지질을 이용한 다양한 실험들이 진행되어왔다.[19-23)] 인지질기를 포함하는 합성고분자 재료에 대한 연구는 1971년부터 시작되어 현재까지 다양한 방법으로 연구되어 왔다. 즉, n-butyl methacrylate(BMA) 등 다른 단량체와의 공중합이나 polyurethane(PU)의 표면에 그라프트 공중합, PU와 semi IPN[21)] 또는 블렌딩,[22)23)] 다른 재료에 코팅 등의 방법을 통해 요구되는 특성 및 물성을 향상시키고 있다.

스텐트 내 혈전 형성과 신생내막 형성에 의한 재협착은 금속 스텐트의 대부분이 불규칙한 표면을 이루며, 양전하를 띄고 있기 때문이다.[7)8)] 이를 막기 위해 헤파린,[24)25)] 인지질,[26)] 히루딘, taxol, dexamethasone 등의 약제를 코팅하거나 혈장단백질 및 혈소판을 밀어내는 PEG를 고정화하는 연구[27)] 등이 진행되고 있다. 그러나, 약물에 의한 단기적인 효과는 볼 수 있지만, 스텐트에 고정된 것이 아니기 때문에 장기간 혈전형성을 억제하는데는 한계가 있다. 뿐만 아니라, 틈 사이로 증식되는 주변조직들을 억제할 수 없고, 스텐트를 확장시켰을 때 탈락되는 혈전들을 비롯한 여러 조직의 조각들에 의한 문제점을 해결할 수 없다.

그리하여 최근에는 스텐트와 스텐트를 감싸는 막으로 구성된 스텐트 그라프트가 개발되었다.[28)29)] 이것은 인조혈관의 부족한 기계적 강도를 스텐트로 보강하고, 스텐트의 높은 혈전형성성과 신생조직유도는 인조혈관재료로 막기 위해 고안된 방법이다. 그러나 지금까지 시행된 관상동맥용 스텐트 그라프트 실험은 실패하였는데, 이는 그라프트라는 고분자 물질이 갖는 특성에서 비롯된 것이다. 즉, 고분자 생체재료가 혈액과 접촉하더라도 혈액의 응고과정은 일어나기 때문이다. 실제 인조혈관을 적용하여도 혈전이 생성되며, 그 혈전층이 유사내막(pseudointima) 기능을 한다. 따라서, 내경 4 mm이하의 인조혈관은 혈전형성과 혈관폐쇄 빈도가 높아서 아직까지 사용되지 못하고 있는 실정이다.

본 연구에서는 hydroxybutyl acrylate로부터 유도된 HBA choline 비닐 단량체를 합성하여 인조혈관 재료인 Dacron, GoreTex 및 Teflon의 표면에 직접 그라프트 중합시켜 혈액적합성을 향상시키고자 하였다. 즉, Dacron, GoreTex 및 Teflon의 표면에 plasma와 UVO를 처리하여 인지질 비닐 단량체를 중합하기 위한 개시점이 되는 peroxide를 형성시킨 후 라디칼 중합을 통해서 polyphospholipid 유도체가 공유 결합된 스텐트 그라프트로 전환하였다. 그 다음, 이와 표면처리 되지 않은 그라프트 재료의 체외 혈액적합성을 비교하였고 사용기체나 전압, 처리 시간 등 처리 조건을 바꾸면서 원하는 개질 조건을 찾아내었다.

본 실험에서 사용한 HBA choline은 세포막의 주성분인 인지질의 일종으로 본 실험을 위해서 새로운 방법으로 합성된 물질이다. 실험 결과에서 보여주었 듯이 HBA choline의 합성은 FTIR spectra 방법으로 확인하였다. 인지질 유도체인 HBA choline을 고분자 표면에 흡착시키기 위한 반응기를 만드는 방법으로 두 가지를 사

용했는데, 하나는 plasma 처리법이고 다른 하나는 UVO를 이용한 방법이었다. Plasma 처리는 고분자 재료를 표면 처리하는데 아주 유용한 방법으로 내부의 특성을 변화시키지 않으면서 표면 특성만을 바꿔주기 때문에, 표면 특성이 중요시되는 생체재료에 널리 이용된다.[30)31)] Ozone 처리 역시 재료의 표면을 산화시켜 peroxide를 형성하며[32)] UV를 조사한 UVO의 경우는 활성화된 ozone으로 더욱더 효과적이다.

Dacron은 반응기를 형성하는데 UVO가 plasma 방법보다 더 효과적이고, GoreTex와 Teflon은 plasma와 UVO 처리 방법이 동일한 효과를 보였기 때문에, 동물실험은 plasma 방법과 UVO 모두 처리한 그라프트를 이용하여 수행하였다.

그라프트에 중합되는 HBA choline 양은 반응기의 생성과 같은 결과를 보여주었다. 즉, 플라즈마 처리 조건은 각각의 재료에 따라서 최적 조건이 다르며, 전압이나 처리 시간이 적정 수준을 벗어나면 오히려 HBA choline 중합율이 떨어지는 것을 관찰하였다.

그라프트에 중합된 HBA choline의 혈액적합성 평가 결과, Dacron에서는 혈소판 점착이 매우 줄어들었던 것과는 달리 PTFE인 GoreTex는 표면처리로 인한 효과가 크지 않은 것처럼 나타났는데, 이는 GoreTex 자체가 극소수성을 띄며 3시간 배양의 실험 조건 영역 내에서 혈장단백질이 재료의 표면에 달라붙어 활성화되기에는 어려운 조건이었기 때문인 것으로 사료된다. 즉, SEM를 이용하여 혈소판 점착을 직접 확인한 결과 Dacron과 GoreTex 모두 표면 처리 후 혈소판이 거의 그라프트 표면에 달라붙지 않는 것을 관찰하였다.

체외 혈액적합성 실험에서 좋은 결과를 얻은 Dacron, GoreTex 및 Teflon을 이용한 동물 실험에서 Dacron과 GoreTex를 삽입한 돼지는 모두 사망하였다. 이는 비록 체외 검사에서 좋은 혈액 적합성을 보였다 하더라도 동물을 이용한 *in vivo* 실험이 반드시 필요하다는 것을 입증하는 결과이다. 즉 돼지 관상동맥에서 Dacron 및 GoreTex는 그 재질적인 문제로 스텐트가 풍선에 의해서 확장될 때 동시에 확장되지 못하고 스텐트와 스텐트 사이에 그라프트가 끼이는 단점이 있다. 그러므로, 스텐트의 확장이 저해되고 이로 인해서 스텐트 그라프트내 혈전이 형성되어 사망한 것으로 사료된다. 이를 뒷받침하기 위해 돼지 신장동맥을 이용한 실험을 수행하였다.

이에 반해 같은 PTFE 재질이지만 확장성이 아주 뛰어난 Teflon은 1마리의 돼지만 실험 후 사망하였고, 나머지는 모두 4주간 생존하여 그라프트 재질의 확장성이 중요하다는 것을 입증하였다.

또한 초기 스텐트를 확장하는 풍선의 기압을 10기압 이하로 하였더니, 스텐트 그라프트가 덜 확장되는 것 이 관찰되었다. 따라서 Teflon 스텐트 그라프트는 모두 18기압으로 확장하여, 추적 혈관내 초음파를 통해서 스텐트 그라프트가 관상동맥에 확실하게 밀착되었고, 신생내막에 의해 잘 둘러싸여 있음을 정확하게 확인하였다.

결 론

1) FTIR spectra를 통하여 세 단계를 거쳐서 합성된 HBA choline을 확인하였으며, Dacron, GoreTex 및 Teflon의 표면에 플라즈마 및 UVO를 처리하여 peroxide를 형성한 후 HBA choline을 고정하였다. 플라즈마 처리는 전압과 처리 시간이 재료마다 가장 효과적인 처리 조건을 성립하는데 매우 커다란 변수로 작용하였다. Dacron의 경우는 플라즈마 처리 시 100 W에서 10초간 처리하였을 때, 가장 많은 양의 peroxide가 형성되었고, UVO의 경우에는 이보다 20배 이상 많이 형성되었다. GoreTex와 Teflon은 플라즈마처리 20초가 가장 효과적이었다. 다음으로 표면에 형성된 peroxide를 이용하여 HBA choline을 중합한 결과, 표면에 peroxide가 많이 형성될수록 많은 양의 HBA choline이 중합됨을 확인하였다.

2) 혈소판을 이용한 체외 혈액적합성 실험은 HBA choline이 중합된 시료가 control에 비하여 우수한 혈액적합성을 나타내었으며, 중합양이 많을수록 그 효과도 컸다.

3) 체외 혈액적합성 실험에서 좋은 결과를 얻은 Dacron, GoreTex 및 Teflon을 이용한 동물 실험에서 Dacron과 GoreTex를 삽입한 돼지는 모두 사망하였다. 반면에 Teflon 스텐트-그라프트를 삽입한 6마리의 돼지 중 5마리가 4주까지 생존하였고, 추적 관상동맥 조영술상 만성 완전폐쇄의 소견을 보인 1마리의 돼지를 제외한 4마리 돼지의 관상동맥은 개방된 소견을 보였다. 혈관내 초음파상 신생내막은 일정하게 혈관내에 생성되어 스텐트 그라프트를 잘 싸고 있었으며, 관상동맥내 혈전은 관찰되지 않았다. 조직학적 검사상, 전체 스텐트 그라프트가 완전히 내막으로 둘러싸여 있었고 만성 염증

반응 세포는 발견되지 않았다.

4) 종합적으로, HBA choline으로 표면 개질 한 Dacron, GoreTex 및 Teflon 모두 혈액적합성에서 우수한 향상을 보였으나, 생체내 실험에서는 Teflon 스텐트 그라프트 만이 뛰어나 혈관 개통성을 보여주었다.

요 약

배경 및 목적 :

본 연구에서는 기존의 고분자 인조혈관을 표면처리 방법을 통하여 그 물성을 개선하여 혈전형성을 최소화하고, 이를 튜브형태로 제조하여 관동맥질환 치료에 적합한 스텐트 그라프트를 개발하고자 하였다.

방 법 :

실험에 사용한 고분자는 Dacron, GoreTex 및 Teflon으로 이 세 가지 인조혈관의 표면에 플라즈마 및 UV ozone 처리로 반응기를 형성시킨 후, 혈액적합성이 우수한 인지질 유도체인 hydroxybutyl acrylate(HBA) choline 단량체를 표면에 고정화시켜 안정적이고 효과적인 항혈전능을 가지도록 하였다. 플라즈마 및 UV ozone 처리 조건을 다양하게 변화시켜 HBA choline이 고분자 표면에 가장 많이 부착되는 최적의 조건으로 체외에서의 혈액적합성 평가실험을 실시하였다.

결 과 :

HBA choline의 중합량이 증가할수록 우수한 혈액적합성을 나타내는 것을 확인하였다. 세 가지 표면개질 한 고분자 이식편을 사용하여 관상동맥용 스텐트 그라프트를 제작하고 이를 돼지 관상동맥에 삽입하여 생체내 실험을 하였다. Dacron과 GoreTex를 이용해서 제작한 스텐트 그라프트를 삽입한 돼지의 경우, 모두 48시간 이내 사망하였다. 반면에 Teflon을 이용한 스텐트 그라프트를 삽입한 돼지는 6마리 중 5마리가 4주까지 생존하였고, 추적 관상동맥 조영술 상 4마리의 돼지의 관상동맥은 개방된 소견을 보였다. 또한, 혈관내 초음파 및 조직 검사상 전체 스텐트 그라프트가 완전히 신생내막에 의해서 둘러싸여 혈관내에 잘 고정되어 있었고, 관상동맥내 혈전 및 만성 염증반응 세포는 발견되지 않았다.

결 론 :

개질 고분자 Teflon 이식편을 이용한 관상동맥용 스텐트 그라프트를 개발하여 돼지관상동맥에 성공적으로 시술하였고, 향후 더 많은 연구와 임상에서의 효과를 입증하여야 할 것이다.

중심 단어 : 관상동맥 질환 ; 스텐트 ; 고분자.

■ 감사문

본 연구에 쓰인 스텐트 그라프트를 만들어 주신 휴메드(주)의 류용선 박사님께 감사드립니다.

본 연구는 1999년 대한순환기학회 신진연구비의 지원에 의해 이루어 졌음.

REFERENCES

1) Dotter CT, Judkins MP. *Transluminal treatment of arteriosclerotic obstruction: description of a new technique and a preliminary report of its application. Radiology 1989;172:904-20.*
2) van Andel GJ, van Erp WF, Krepel VM, Breslau PJ. *Percutaneous transluminal dilatation of the iliac artery: long-term results. Radiology 1985;156:321-3.*
3) Hewes RC, White RI Jr, Murray RR, Kaufman SL, Chang R, Kadir S, Kinnison ML, Mitchell SE, Auster M. *Long term results of superficial femoral artery angioplasty. Am J Roentgenol 1986;146:1025-9.*
4) Krepel VM, van Andel GJ, van Erp WF, Breslau PJ. *Percutaneous transluminal angioplasty of the femoropopliteal artery: initial and long-term results. Radiology 1985;156:325-8.*
5) Fischman DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP, Penn I, Detre K, Veltri L, Ricci D, Nobuyoshi M. *A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. N Engl J Med 1994;331:496-501.*
6) Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, Emanuelsson H, Marco J, Legrand V, Materne P. *A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. N Engl J Med 1994;331:489-95.*
7) Painter JA, Mintz GS, Wong SC, Popma JJ, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, Leon MB. *Serial intravascular ultrasound studies fail to show evidence of chronic Palmaz-Schatz stent recoil. Am J Cardiol 1995;75:398-400.*
8) Dussaillant GR, Mintz GS, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, Popma JJ, Wong SC, Leon MB. *Small stent size and intimal hyperplasia contribute to restenosis: a volumetric intravascular ultrasound analysis. J Am Coll Cardiol 1995;26:720-4.*
9) Mintz GS, Pichard AD, Kent KM, Salter LF, Popma JJ, Wong SC, Painter JA, de Forty D, Leon MB. *Endovascular stents reduce restenosis by eliminating geometric arterial remodeling: a serial intravascular study [abstract]. J Am Coll Cardiol 1995;25 (Suppl A)A36.*
10) van Beusekom HM, van der Giessen WJ, van Ingen Schenau D. *Synthetic polymers as an alternative to metal in stents?: in vivo and mechanical behaviour of polyethyleneterephtalate [abstract]. Circulation 1992;86 (Suppl I):I731.*
11) Murphy JG, Schwartz RS, Edwards WD, Camrud AR, Vlietstra RE, Holmes DR Jr. *Percutaneous polymeric stents in porcine coronary arteries: initial experience with polye-*

thylene terephthalate stents. Circulation 1992;86:1596-604.
12) Lincoff AM, van der Giessen WJ, Schwartz RS, van Beusekom HM, Serruys PW, Holmes DR. *Biodegradable and biostable polymers may both cause vigorous inflammatory responses when implanted in the porcine coronary artery [abstract]. J Am Coll Cardiol 1993;21 (Suppl A):179A.*
13) Thornton MA, Gruentzig AR, Hollman J, King SB 3rd, Douglas JS. *Coumadine and aspirin in prevention of recurrence after transluminal coronary angioplasty: a randomized study. Circulation 1984;69:721-7.*
14) Ellis SG, Roubin GS, Wilentz J, Douglas JS Jr, King SB 3rd. *Effect of 18- to 24-hour heparin administration for prevention of restenosis after uncomplicated coronary angioplasty. Am Heart J 1989;117:777-82.*
15) Pepine CJ, Hirshfeld JW, Macdonald RG, Henderson MA, Bass TA, Goldberg S, Savage MP, Vetrovec G, Cowley M, Taussig AS. *A controlled trial of corticosteroids to prevent restenosis after coronary angioplasty. Circulation 1990;81:1753-61.*
16) O'Keefe JH Jr, Giorgi LV, McCallister BD. *Does diltiazem reduce complications or restenosis after coronary angioplasty?: a randomized blinded placebo-controlled trial. J Am Coll Cardiol 1991;17:196-200.*
17) Whitworth HB, Roubin GS, Hollman J, Meier B, Leimgruber PP, Douglas JS Jr, King SB 3rd, Gruentzig AR. *Effect of nifedipine on recurrent stenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. J Am Coll Cardiol 1986;8:1271-6.*
18) Reis GJ, Sipperly ME, McCabe CH, Sacks FM, Boucher TM, Silverman DI, Baim DS, Grossman W, Pasternak RC. *Randomized trial of fish oil for prevention of restenosis after coronary angioplasty. Lancet 1989;2:177-81.*
19) Ishihara K, Oshida H, Endo Y, Ueda T, Watanabe A, Nakabayashi N. *Hemocompatibility of human whole blood on polymers with a phospholipid polar group and its mechanism. J Biomed Mater Res 1992;26:1543-52.*
20) Ishihara K, Hanyuda H, Nakabayashi N. *Synthesis of phospholipid polymers having a urethane bond in the side chain as coating material on segmented polyurethane and their platelet adhesion-resistant properties. Biomaterials 1995;16:873-9.*
21) Iwasaki Y, Aiba Y, Morimoto N, Nakabayashi N, Ishihara K. *Semi-interpenetrating polymer networks composed of biocompatible phospholipid polymer and segmented polyurethane. J Biomed Mater Res 2000;52:701-8.*
22) Yoneyama T, Ishihara K, Nakabayashi N, Ito M, Mishima Y. *Short-term in vivo evaluation of small-diameter vascular prosthesis composed of segmented poly (etherurethane)/2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymer blend. J Biomed Mater Res 1998;43:15-20.*
23) Hasegawa T, Iwasaki Y, Ishihara K. *Preparation and performance of protein-adsorption-resistant asymmetric porous membrane composed of polysulfone/phospholipid polymer blend. Biomaterials 2001;22:243-51.*
24) Ahn YK, Jeong MH, Kim JW, Kim SH, Cho JH, Park CS, Juhng SW, Park JC, Kang JC. *Preventive effects of the heparin-coated stent on restenosis in the porcine model. Catheter Cardiovasc Interv 1999;48:324-30.*
25) Shin EK, Son JW, Sohn MS, Jin DK, Park GS, Koh KK, Ahn TH, Choi IS. *Efficacy of heparin-coated stent in early setting of acute myocardial infarction. Catheter Cardiovasc Interv 2001;52:306-12.*
26) Galli M, Sommariva L, Prati F, Zerboni S, Politi A, Bonatti R, Mameli S, Butti E, Pagano A, Ferrari G. *Acute and mid-term results of phosphorylcholine-coated stents in primary coronary stenting for acute myocardial infarction. Catheter Cardiovasc Interv 2001;53:182-7.*
27) Zhang F, Kang ET, Neoh KG, Wang P, Tan KL. *Surface modification of stainless steel by grafting of poly (ethylene glycol) for reduction in protein adsorption. Biomaterials 2001;22:1541-8.*
28) Christensen K, Larsson R, Emanuelsson H, Elgue G, Larsson A. *Coagulation and complement activation. Biomaterials 2001;22:349-55.*
29) Lambert AW, Budd JS, Fox AD, Potter U, Rooney N, Horrocks M. *The incorporation of a stent-graft into the porcine aorta and the inflammatory response to the endoprosthesis. Cardiovasc Surg 1999;7:710-4.*
30) Lin JC, Cooper SL. *Surface characterization and ex vivo blood compatibility study of plasma-modified small diameter tubing: effect of sulphur dioxide and hexamethyldisiloxane plasmas. Biomaterials 1995;16:1017-23.*
31) Liming D, Heather AW, Jingjing B, Paul Z, Ronald CC, Hans JG. *Biomedical coatings by the covalent immobilization of polysaccharides onto gas-plasma-activated polymer surfaces. Surf Interface Anal 2000;29:46-55.*
32) Teare DO, Ton-That C, Bradley RH. *Surface characterization and ageing of ultraviolet-ozone-treated polymers using atomic force microscopy and x-ray photoelectron spectroscopy. Surf Interface Anal 2000;29:276-83.*