

돼지 관상동맥 스텐트 재협착 모형에서 경구 Alpha Lipoic Acid 투여 및 Alpha Lipoic Acid 부착 스텐트의 효과

제주대학교 의과대학 내과학교실,¹ 전남대학교 의과대학 전남대학교병원 심장센터, 전남대학교 의과학연구소,² 전남대학교 공과대학 응용화학공학부³

임상엽¹ · 배은희² · 정명호² · 김주한² · 안영근² · 조정관²
박종춘² · 강정채² · 조동련³ · 김기석¹ · 주승재¹

The Effect of Oral Administration of Alpha Lipoic Acid and Alpha Lipoic Acid Coated Stent in Porcine In-Stent Restenosis Model

Sang Yup Lim, MD¹, Eun Hui Bae, MD², Myung Ho Jeong, MD², Ju Han Kim, MD²,
Youngkeun Ahn, MD², Jeong Gwan Cho, MD², Jong Chun Park, MD², Jung Chae Kang, MD²,
Dong Lyun Cho, PhD³, Ki-Seok Kim, MD¹ and Seung-Jae Joo, MD¹

¹Department of Internal Medicine, Cheju National University, Jeju, ²The Heart Center of Chonnam National University Hospital, Gwangju, Chonnam National University Research Institute of Medical Science, Gwangju,

³Chemical Engineering of Chonnam National University, Gwangju, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : Alpha lipoic acid (ALA) is beneficial for improving endothelial dysfunction and preventing atherosclerosis-related diseases. We evaluated the affect of ALA on stent restenosis in a porcine model. **Materials and Methods :** The First experiment: Balloon overdistension injuries were performed in two coronary arteries in 12 pigs. Four weeks after the balloon overdistension injury, 24 bare metal stents were placed for 24 injured coronary arteries. We randomized into two groups (12 stents per group; control group: aspirin and clopidogrel only, ALA group: aspirin and clopidogrel plus 100 mg/kg ALA during 4 weeks). The Second experiment: Stents were randomly implanted in 2 coronary arteries in 8 pigs. Group I was the control stent group (n=8), and group II was the ALA coated stent group (n=8). Follow-up coronary angiogram and histopathologic assessment were performed at 4 weeks after stenting in both experiments. **Results :** The First experiment On histopathologic analysis, the injury score and internal elastic lamina area did not differ significantly between the two groups. The neointimal area was $7.3 \pm 0.9 \text{ mm}^2$ in the control group and $2.2 \pm 1.1 \text{ mm}^2$ in the ALA group ($p < 0.001$), and the histopathologic area of stenosis was $75.9 \pm 8.5\%$ in the control group and $23.5 \pm 10.5\%$ in the ALA group ($p < 0.001$). The Second experiment: The injury score and internal elastic lamina area were not significantly different between the two groups. The neointimal area was $7.4 \pm 1.1 \text{ mm}^2$ in the control group and $1.4 \pm 0.8 \text{ mm}^2$ in the ALA group ($p < 0.001$), and the histopathologic area of stenosis was $77.6 \pm 10.9\%$ in the control group and $15.6 \pm 7.6\%$ in the ALA group ($p < 0.001$). **Conclusion :** Both a high dose of oral ALA and ALA coated stents inhibited neointimal hyperplasia in this porcine coronary artery stent restenosis model. (Korean Circulation J 2006;36:495-502)

KEY WORDS : Coronary disease ; Restenosis ; Stents ; Anti-oxidants.

논문접수일 : 2006년 5월 3일

심사완료일 : 2006년 7월 11일

교신저자 : 정명호, 501-757 광주광역시 동구 학동 8번지 전남대학교병원 심장센터, 전남대학교 의과학연구소

전화 : (062) 220-6243 · 전송 : (062) 228-7174 · E-mail : myungho@chollian.net

서론

최근 약물 유리형 스텐트의 개발은 스텐트 시술에 따른 신생 내막 증식을 억제하여 재협착을 상당히 줄였다.¹⁻³⁾ 그러나 아급성 혈전증과 같은 혈관 합병증이 완전히 해결된 것은 아니며,⁴⁾ sirolimus나 paclitaxel 등의 증식 억제제나 항암제가 코팅된 스텐트에 의한 과민반응이나 세포독성 등이 우려되고 있는 실정이다.⁵⁾

Alpha-Lipoic acid(ALA)는 thiol계 항산화제 화합물로서 당뇨병으로 인한 혈관 내피세포 장애와 당뇨병성 말초신경병을 개선시킨다고 알려져 있다.⁶⁾ 그러나 ALA를 경구로 큰 실험동물에 투여하였을 때 혹은 ALA로 코팅된 스텐트가 스텐트 내의 신생내막 증식에 미치는 영향은 아직까지 연구된 바 없다.

본 연구는 돼지 관상동맥 재협착 모형에서 고용량의 ALA 경구 투여 및 ALA로 코팅된 스텐트의 스텐트 재협착 억제 효과를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

ALA의 경구투여 방법

1차 실험에서 풍선 손상 4주 후 일반 금속 스텐트(bare metal stent)를 각각 하나씩 삽입하고, 경구로 aspirin 100 mg과 clopidogrel 75 mg, 그리고 ALA 100 mg/kg(Bukwang, Korea)을 4주간 투여하였다.

스텐트의 제조

ALA의 코팅은 3.0×18 mm MAC® 스텐트(AMG, Raesfeld-Erle, Germany)의 표면을 디아미노시클로헥산(diaminocyclohexane) 플라즈마(plasma), 산소 플라즈마, 또는 아르곤 플라즈마로 개질시킨 다음 ALA 용액에 담그는 기존의 확립된 방법을 이용하였다.⁷⁾¹⁸⁾

세척과정에서는 스텐트의 표면개질 전에 스텐트에 붙은 물질을 산소, 아르곤 또는 아르곤+수소 플라즈마를 이용하여 제거하였다. 세척과정은 통 형태의 R.F. 플라즈마 반응기에서 시행하고, 스텐트를 샘플 지지대에 위치시키고, 밸브를 개방한 후에, 회전식 진공펌프를 이용하여 반응 챔버의 압력이 0.01 torr 이하가 될 때까지 소제하였다. 세척과정 후 0.01 torr 이하에서 재 진공상태를 만들며, 표면개질 과정 중 디아미노시클로헥산 증기가 액체 저장고로부터 유입되도록 하였으며, 가스압력이 0.01 내지 0.5 torr에 도달하도록 흐름속도를 맞추었다. 산소, 아르곤 또는 아르곤+수소 플라즈마 세척을 위해서 정지 밸브를 개방한 후에, 가스 저장고를 개방하여, 산소, 아르곤 또는 아르곤+수소 가스가 유입되게 하고, 가스압을 0.05~5 기압으로 하였다. R.F. 방전 전력(discharge power)은 5~100 watt로 하고, R.F. 전원에서 저온 플라즈마를 생성하고, 스텐트를 5~20분간 노출

시켜 얇은 막을 형성하도록 하였다. 표면개질 후, 정지 밸브를 폐쇄하고 0.01 torr 이하의 압력으로 소제한 다음 공기를 주입하여 개질된 스텐트를 공기 속으로 유출시켰다. 표면개질 공정을 거친 스텐트를 ALA 용액(소량의 ALA와 sodium citrate 및 cyanamide이 첨가된 수용액에 25~50℃에서 5~80분간 담근 후, 약하게 결합된 ALA를 제거하기 위해 탈이온수(deionized water)에서 1분간 세척하여 ALA가 코팅된 스텐트를 제조하였다.

돼지 관상동맥 스텐트 재협착 모형 및 스텐트 시술

동물실험은 전남대학교 의과대학 의과학연구소 및 전남대학교병원 임상연구소 윤리위원회의 허가를 받아 실시하였고, 실험동물은 체중이 25~30 kg의 돼지를 사용하였다. 동물사육사는 항온, 항습 시설이 갖추어진 곳으로서 사료 및 수돗물을 공급하였다. 시술 3일 전부터 aspirin(100 mg/day)과 clopidogrel(75 mg/day)을 투여하였다.

실험당일 ketamine 12 mg/kg와 xylazine 8 mg/kg을 근주하여 전신마취를 유도하였다. 무균상태에서 2% 리도케인으로 목 중앙부에 국소마취를 실시한 후 돼지의 좌측 경동맥을 절개하여 7 French 동맥 유도초를 삽입하였다. 헤파린(300 U/kg)을 동맥 내로 단일 주사요법으로 투여한 후 7 French의 관상동맥 유도도자를 C-arm(Philips사 BV-25 Gold)의 투시 하에 관상동맥 개구부에 위치시켰다. 실험 중에는 안면 산소마스크를 이용하여 지속적으로 산소를 공급하고, 귀의 정맥을 통하여 식염수를 공급하였다.

1차 실험

총 12마리의 암돼지를 2개의 관상동맥을 선택하여 풍선과확장 손상(balloon overdilation injury)을 가하였다. 풍선 손상 4주 후에 24개의 3.0×18 mm의 일반 금속 스텐트를 손상을 가하였던 관상동맥에 각각 하나씩 삽입하였다. I군은 대조군(n=6), II군은 스텐트 시술 후 경구로 ALA 100 mg/kg을 4주간 투여한 군(n=6)으로 분류하였다.

2차 실험

총 8마리의 암돼지를 2개의 관상동맥을 선택하여 각각의 동맥에 무작위로 대조 스텐트(n=8, 3.0×18 mm)와 ALA를 코팅한 스텐트(n=8, 3.0×18 mm)를 삽입하였다.

스텐트 시술은 관상동맥의 근위부에 스텐트를 위치시키고 8~12기압의 압력으로 참고혈관 크기보다 1.1배로 혈관이 약간 과확장 되도록 30초간 풍선을 확장시켜 삽입하였다. 스텐트 시술 전후로 관상동맥 조영술을 실시하여 CD에 녹화 기록하였고, 저장된 영상을 Philips H5000 DCI program을 이용하여 정량분석을 하였다. 시술 후 경동맥을 절찰한 후 목의 피부를 봉합하였고, 돼지를 사육사로 옮겨 4주동안 관찰하였다. 이 기간동안 계속 aspirin과 clopidogrel을 투여하였다. 스텐트 시술 4주 후에 추적 관상동맥 조영술을 시

행한 후 희생시켜 조직병리검사를 실시하였다.

조직형태 검사(Histomorphometry)

적출한 돼지 심장은 10% 중성 포르말린으로 고정하였고 스텐트 상하부 1 cm까지 관상동맥 절편을 적출하여 혈관을 2~3 mm 간격으로 절단한 후 현미경 시야에서 혈관이 변형되거나 손상되지 않도록 스텐트 filament를 제거하였다. 동맥분절의 절단편은 정량적 조직형태학적 측정을 위하여 Hematoxyline and Eosin 염색을 하였고, 플라스틱에 고정한 후, 합성수지 포매제(methyl methacrylate: MMA)를 사용하여 침투 및 포매를 한 후 염색하였다.

조직형태 검사는 현미경에 부착된 비디오시설과 computerized visual image analysis system인 VISUS 2000 프로그램을 이용하여 스텐트 시술에 참여하지 않은 병리학자에 의하여 분석하였다. 조직의 형태가 양호한 절편을 대상으로 관상동맥 근위부, 중심부, 원위부의 3부위 이상을 스텐트 시술 혈관의 외탄력층(external elastic lamina: EEL) 면적, 내탄력층(internal elastic lamina: IEL) 면적, 내강(lumen) 면적, 신생내막 면적 등을 측정하였다. 스텐트 혈관의 면적 협착(area stenosis)은 $100 \times (1 - \text{lumen area} / \text{IEL area})$ 의 공식을 이용하여 계산하였다.⁷⁾

혈관벽의 손상지수는 내탄력층이 손상되지 않고 내피세포만 손상된 경우를 0점, 내탄력층이 손상된 경우 1점, 중막이 손상된 경우를 2점, 외탄력층이 손상된 경우를 3점으로 하였다.⁸⁾ 신생내막층의 염증세포 침윤 정도를 알기 위하여 스텐트 시술에 참여하지 않은 병리학자에 의해 현미경 하에서 400배 확대시야로 조직을 확대한 후 혈관의 12시, 3시, 6시, 9시 방향에서 총 세포수와 염증세포수를 각각 구하고 총 세포 중에서 염증세포가 차지하는 비율을 이용하였다. 이때 조

직상태와 염색상태가 양호하고 염증세포가 비교적 균등하게 분포된 부위에서 염증세포 수를 조사하였다. 모든 검사는 스텐트 시술에 참여하지 않은 병리학자가 시행하였다.

통계학적 분석

모든 자료는 평균±표준편차로 표시하였으며, 변수의 비

Table 1. Quantitative coronary angiographic findings of porcine coronary arteries of first experiment

	Control group (n=6)	ALA feeding group (n=6)	P
Baseline (mm)			
Proximal diameter	3.1±0.6	3.0±1.1	0.872
Distal diameter	2.7±0.4	2.6±0.9	0.721
Reference diameter	2.9±1.1	2.9±0.1	0.734
Post-stenting diameter	3.2±0.9	3.2±0.7	0.892
4 weeks after stenting (mm)			
Proximal diameter	3.1±0.7	3.1±0.7	0.845
Distal diameter	2.8±0.2	2.6±0.2	0.127
Target reference diameter	2.9±0.1	2.8±0.2	0.821
Minimal luminal diameter	1.7±0.3	3.0±0.2	<0.001

ALA: alpha lipoic acid

Table 2. Histopathologic assessment of porcine coronary arteries of first experiment

	Control group (n=6)	ALA feeding group (n=6)	P
Injury score	1.7±0.7	1.3±0.5	0.145
Lumen area (mm ²)	2.3±0.9	7.1±0.8	<0.001
IEL area (mm ²)	9.6±0.8	9.3±0.7	0.502
Neointima area (mm ²)	7.3±0.9	2.2±1.1	<0.001
Area stenosis (%)	75.9±8.5	23.5±10.5	<0.001
Inflammatory cell (%)	51.8±16.5	21.5±9.6	<0.001

ALA: alpha lipoic acid, IEL: internal elastic lamina

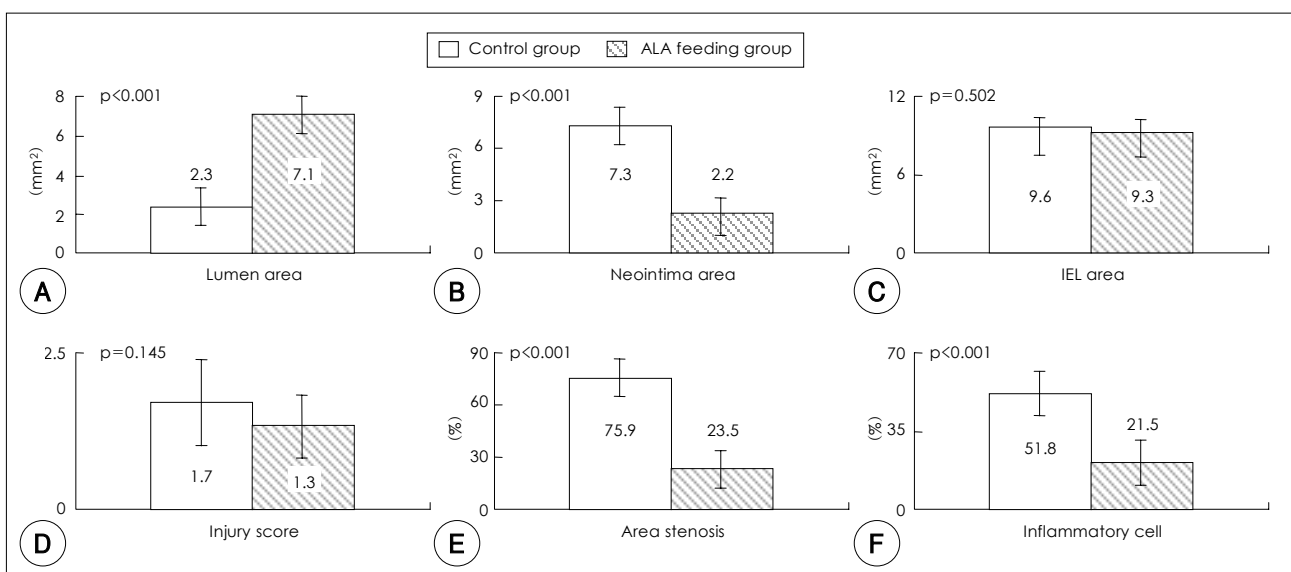


Fig. 1. Histopathologic assessment of porcine coronary arteries of first experiment. A: lumen area (mm²). B: neointimal area (mm²). C: internal elastic lamina (IEL) area (mm²). D: injury score. E: area stenosis (%). F: inflammatory cell (%). ALA: alpha lipoic acid, IEL: internal elastic lamina.

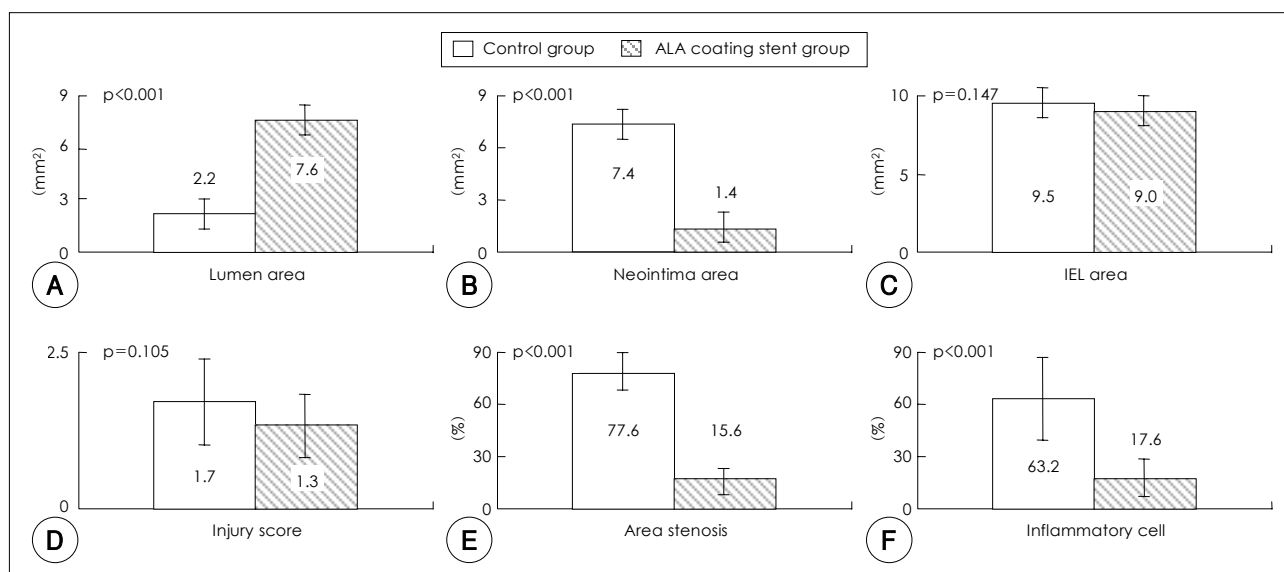


Fig. 2. Histopathologic assessment of porcine coronary arteries of first experiment. A: lumen area (mm²). B: neointimal area (mm²). C: internal elastic lamina (IEL) area (mm²). D: injury score. E: area stenosis (%). F: inflammatory cell (%). ALA: alpha lipoic acid, IEL: internal elastic lamina.

교는 MS Window용 SPSS-PC 12.0 프로그램을 이용하여 unpaired t-test와 chi-square test로 하였다. P값이 0.05 미만인 경우에 통계학적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

1차 동물실험

정량적 관상동맥 조영술 결과 풍선손상 전의 최소 내경 면적(minimal luminal diameter; MLD)은 양 군 간에 유의한 차이를 보이지 않았으나, 스텐트 시술 4주 후에는 I군 1.7±0.3 mm, II군 3.0±0.2 mm로 II군의 MLD가 유의하게 컸다(p<0.001, Table 1). 조직형태학적 검사에서 세포손상 지수는 I군 1.7±0.7, II군 1.3±0.5로 각 군간에 유의한 차이가 없었으며(p=0.145), 내탄력층 면적은 I군 9.6±0.8 mm², II군 9.3±0.7 mm²로 각 군간에 유의한 차이가 없었다(p=0.502). 내강 면적은 I군 2.3±0.9 mm², II군 7.1±0.8 mm²로 II군에서 내강면적이 유의하게 컸으며(p<0.001), 신생내막 면적은 I군 7.3±0.9 mm², II군 2.2±1.1 mm²로 I군에서 유의하게 넓었다(p<0.001). 면적 협착은 I군 75.9±8.5%, II군 23.5±10.5%로서 I군에서 면적 협착이 유의하게 컸다(p<0.001, Table 2)(Fig. 1, 3). 신생내막의 염증세포의 비율은 I군 51.8±16.5%, II군 21.5±9.6%로서 I군에서 유의하게 많았다(p<0.001, Table 2)(Fig. 3, 5).

2차 동물실험

정량적 관상동맥 조영술 결과 스텐트 시술 전의 MLD는 양군 간에 유의한 차이를 보이지 않았으나, 스텐트 시술 4주 후에는 I군 1.6±0.4 mm, II군 3.1±0.2 mm로 II군의 MLD가 유의하게 컸다(p<0.001, Table 3). 조직형태학적 검사에

Table 3. Quantitative coronary angiographic findings of porcine coronary arteries of second experiment

	Control group (n=6)	ALA feeding group (n=6)	p
Baseline (mm)			
Proximal diameter	3.1±0.6	3.0±0.8	0.792
Distal diameter	2.7±0.7	2.7±0.9	0.823
Reference diameter	2.9±0.2	2.8±0.7	0.731
Post-stenting diameter	3.2±0.9	3.1±0.7	0.787
4 weeks after stenting (mm)			
Proximal diameter	3.1±0.7	3.0±0.9	0.842
Distal diameter	2.8±0.2	2.6±0.2	0.127
Target reference diameter	2.9±0.1	2.9±0.2	0.821
Minimal luminal diameter	1.6±0.4	3.1±0.2	<0.001

ALA: alpha lipoic acid

Table 4. Histopathologic assessment of porcine coronary arteries of second experiment

	Control stent group (n=8)	ALA coated stent group (n=8)	p
Injury score	1.7±0.7	1.3±0.5	0.105
Lumen area (mm ²)	2.2±1.1	7.6±0.9	<0.001
IEL area (mm ²)	9.5±0.5	9.0±0.8	0.147
Neointima area (mm ²)	7.4±1.1	1.4±0.8	<0.001
Area stenosis (%)	77.6±10.9	15.6±7.6	<0.001
Inflammatory cell (%)	63.2±23.7	17.6±11.6	<0.001

ALA: alpha lipoic acid, IEL: internal elastic lamina

서 세포손상 지수 및 내탄력층 면적은 각 군간에 유의한 차이가 없었으나, 내강 면적은 I군 2.1±1.1 mm², II군 7.6±0.9 mm²로서 II군에서 내강면적이 유의하게 컸으며(p<0.001), 신생내막 면적은 I군 7.4±1.1 mm², II군 1.4±0.8 mm²로서 I군에서 유의하게 넓었다(p<0.001). 면적 협착은

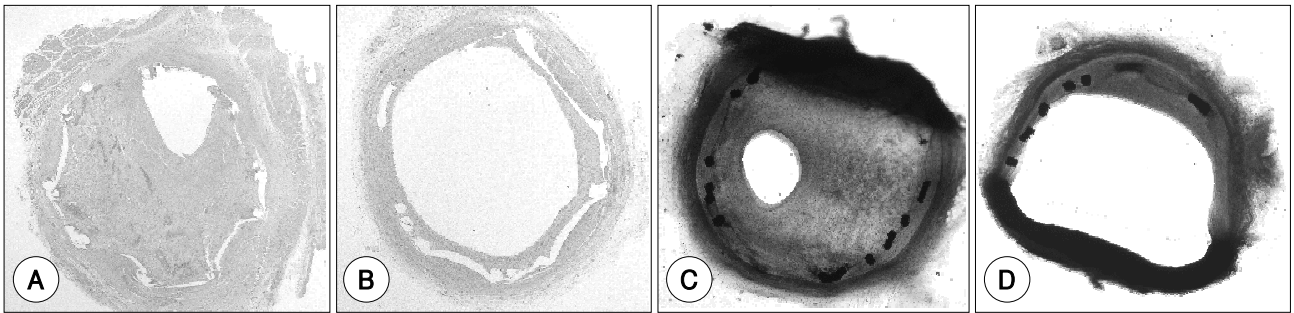


Fig. 3. The results of the first experiment. In-stent neointimal area of high dose alpha lipoic acid (ALA) feeding group was lower than that of control group. Hematoxyline and eosin stain, and methyl methacrylate staining. A and C: control group. B and D: high dose ALA feeding group. ALA: alpha lipoic acid.

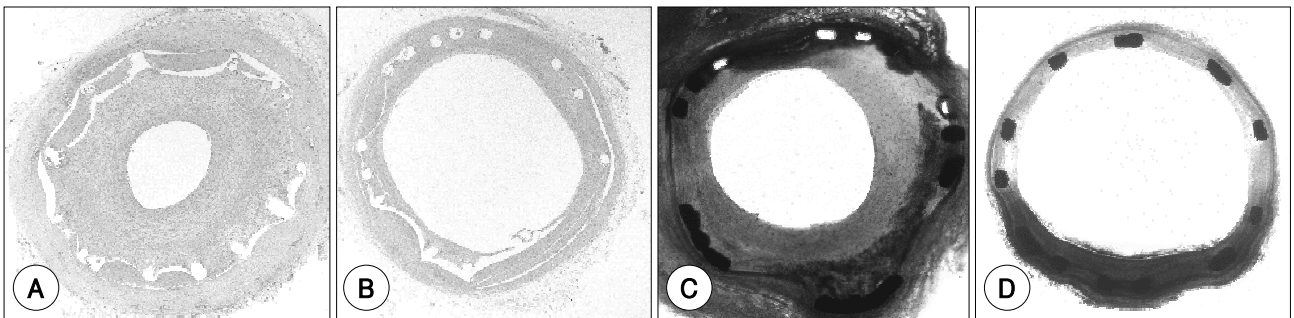


Fig. 4. The results of the second experiment. In-stent neointimal area was smaller in alpha lipoic acid (ALA) coated stent group than in control group. Hematoxyline and eosin stain, methyl methacrylate stain. A and C: control group. B and D: ALA coated stent group. ALA: alpha lipoic acid.

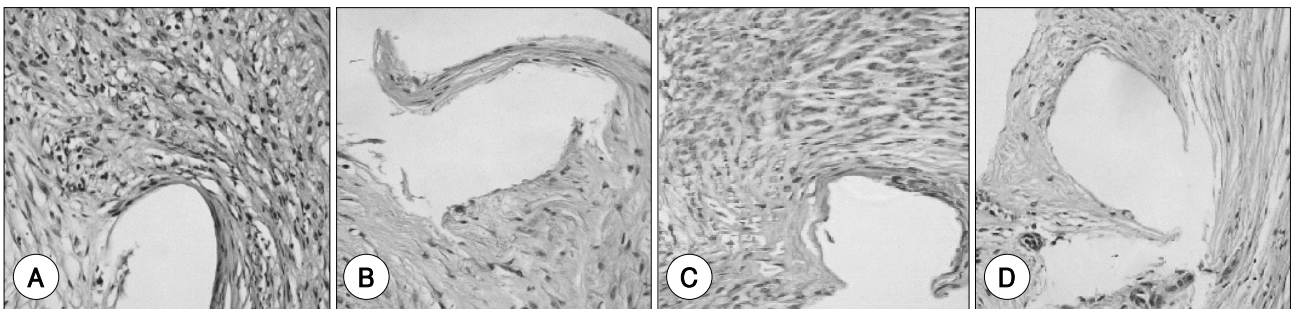


Fig. 5. The results of high power field light microscopy ($\times 200$). Inflammatory cells of high dose alpha lipoic acid (ALA) feeding group and ALA coating stent group was lower than that of control group. Hematoxyline and Eosin stain. A: control group. B: high dose ALA feeding group. C: control stent group. D: ALA coating stent group. ALA: alpha lipoic acid.

I군 $77.6 \pm 10.9\%$, II군 $15.6 \pm 7.6\%$ 로서 I군에서 면적 협착이 유의하게 컸다($p < 0.001$, Table 4)(Fig. 2, 4). 신생내막의 염증세포의 비율은 I군 $63.2 \pm 23.7\%$, II군 $17.6 \pm 11.6\%$ 로서 I군에서 유의하게 많았다($p < 0.001$, Table 4)(Fig. 4, 5).

고 찰

본 연구의 의의는 최근에 관심을 끌고 있는 ALA를 이용하여 고용량의 경구 ALA의 투여 및 ALA를 코팅한 스텐트가 신생내막 증식 및 염증반응으로 인한 스텐트 재협착을 효과적으로 억제하였음을 밝힌 최초의 동물실험 연구라는데 있다.

스텐트 재협착은 예방을 위한 노력에도 불구하고 여전히

경피적 관상동맥 중재술의 주요한 한계로 남아있다. 이러한 스텐트 재협착의 기전으로 염증반응이 중요한 역할을 담당하고 있다.⁹⁾ 풍선이나 스텐트로 혈관에 손상을 가하면 혈관 평활근세포와 염증세포는 활성화되고,¹⁰⁾ 이들로부터 다양한 사이토카인(cytokine)들이 분비되어 혈관 평활근세포의 이동과 증식을 촉진하여 결국 신생내막 증식(neointimal hyperplasia)을 초래하게 된다.¹¹⁾¹²⁾

이러한 스텐트 재협착에 있어 약물방출 스텐트는 신생내막의 증식에 의한 스텐트 재협착을 현저히 감소시킬 수 있는 혁신적인 방법이다. 최초로 임상 연구가 보고된 sirolimus-eluting stent(SES)는 임상에서 성공적인 결과를 보였다.¹³⁾¹⁴⁾ 그러나, 항암제나 증식억제제를 코팅한 스텐트들은 과민반응이나 세포독성 등이 문제가 되고 있다. 실제로 SES를 삽

입 후 18개월이 경과한 환자가 급사한 후 부검에서 스텐트를 삽입한 동맥의 aneurysmal dilatation과 T림프구와 호산구 매개성의 심한 국소적인 과민반응이 보고된 바 있다.⁴⁵⁾

이러한 문제들을 모두 해결할 수 있는 약물방출 스텐트는 아직 개발되지 않은 상태로 현재까지 약 10여 종류의 약물이 이미 스텐트에 코팅되어 사용 중이거나 테스트 중이며, 국내에서도 지금까지 heparin, abciximab, carvedilol 등 다양한 종류의 약물방출 스텐트를 개발 중이다.¹⁵⁻²⁰⁾ 그러나 새로운 항산화제인 ALA를 코팅한 스텐트에 대한 보고는 아직까지 없다.

ALA는 지금까지 당뇨병과 연관된 말초신경병증이나 동맥경화의 치료에 이용되어 왔다.²¹⁾²²⁾ ALA는 생체 조직 내에서 쉽게 환원되어 세포내 조효소인 NADPH와 NADH의 농도를 증가시키며, 혈관 내피세포의 변화와 혈류 장애를 유발하는 단백질의 당화를 감소시킨다. 또한 산화 radical에 대한 scavenger로 작용하여 항산화 효과를 나타낸다.²³⁻²⁵⁾

산화스트레스는 여러 가지 심장질환의 발생과 진행에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 알려지고 있으며,²⁶⁾ 관상동맥 중재술 시에 발생하는 허혈 후 재관류 손상 등에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.²⁷⁾ ALA는 이러한 재관류 손상시 발생하는 산화스트레스를 용량 의존적으로 줄이는 기전으로 항산화 효과를 나타내며, 내피세포의 기능을 호전시킨다고 알려져 있다.²⁸⁾

또한 최근의 연구에서는 ALA가 fractalkine과 관련된 염증반응을 줄일 수 있음이 보고되었으며,²⁸⁾ 풍선손상과 관련되어 fractalkine의 발현을 억제하여 쥐의 경동맥 손상모델(rat carotid injury model)에서 신생내막 증식을 억제하였음이 보고된 바 있다.²⁹⁾

본 연구에서는 풍선손상과 스텐트 삽입으로 관상동맥 재협착 모델을 만들었던 돼지에게 고용량의 ALA를 경구로 투여하여 ALA의 경구투여가 스텐트 재협착에 미치는 효과를 관찰하였다. 고용량의 경구 ALA 투여가 재협착을 억제하는 기전으로는 전술한 ALA의 염증억제 효과와 항산화 효과로 인한 것으로 생각되었다.

본 연구에서 동맥 손상 후 발생하는 신생내막의 증식을 연구하기 위하여 관상동맥에 풍선도관을 확장하여 손상을 일으키고, 4주 후 스텐트를 확장 시술하였다. 동물 모형에서는 주로 4주간의 관찰기간을 설정하나, 임상에서는 신생내막의 증식이 발생하는데 주로 6개월의 기간이 요구되며, 오랜 기간동안 동맥경화증이 유발되어 혈관 내 동맥경화 죽상반의 파열로 관상동맥 중후군이 발생한 것이며 스텐트 재협착에 관여한다고 알려져 있는 혈관 내 혈전, 염증반응 등이 스텐트 재협착의 원인이 되므로, 인체에서 일어나는 동맥경화와 유사한 조건을 만들기 위하여 위의 방법을 사용하였다.

1차 실험에서 100 mg/kg의 고용량의 ALA를 사용한 이유는 이 등²⁰⁾의 실험에서 25 mg/kg/day, 50 mg/kg/day, 100

mg/kg/day의 방법 중 100 mg/kg/day가 가장 효과적으로 신생내막의 형성을 억제하였던 것에 기인하며, 실제로 신생내막의 형성을 효과적으로 억제하였다.

이러한 결과를 바탕으로 ALA를 코팅한 스텐트로 2차 실험을 시도하였고, 돼지의 관상동맥 재협착 모델에서 신생내막의 증식과 염증반응을 효과적으로 억제할 수 있었으며, 기존의 약물 코팅 스텐트에서 간혹 관찰되던 세포독성이나 과민반응 등은 관찰되지 않았다. 이전의 약물 코팅 스텐트는 세포독성으로 인한 장기적인 예후나 세포손상에 대한 염려가 있었으나, ALA 코팅 스텐트 및 ALA의 경구 투여는 혈관 기능 개선효과 및 생리적이고 장기적인 안전성을 확보하고 있다는 장점이 있다.

본 연구의 제한점으로 첫째, 실험동물로 비교적 큰 동물인 돼지를 사용하는 어려움으로 인해 대상 수가 적은 편이었다. 또한 양군의 손상지수에 차이가 없었으나 약물방출 스텐트 사용군에서 다른 약물방출 스텐트에 대한 동물실험³⁰⁾에 비하여 낮은 면적 협착을 보였으며, 이는 상대적으로 적은 대상 수에 의한 것으로 보인다. 둘째, 경구로 투여하였던 ALA의 용량이 100 mg/kg의 고용량으로 실제 임상에 적용하기에는 무리가 있으며 적정용량결정(dose titration)이 필요할 것으로 보인다. 셋째, 경구 투여한 ALA와 스텐트에 코팅된 ALA가 재협착을 억제하는 기전이 동일한 것인지 확인되지 않은 점이다.

그러나 향후 ALA가 신생내막의 증식과 염증반응을 억제시키는 기전에 대하여 *in vitro* 연구와 병행하고, 보다 많은 동물실험을 지속적으로 수행하여 동일한 결과를 얻는다면 ALA 코팅 스텐트를 임상에 이용할 수 있을 것으로 생각되었다.

결론적으로 고용량의 경구 ALA투여 및 ALA를 코팅한 스텐트 모두 돼지의 관상동맥 재협착 모델에서 신생내막 증식 및 염증반응을 효과적으로 억제할 수 있었다

요 약

배경 및 목적 :

Alpha lipoic acid(ALA)는 동맥경화성 질환의 예방 및 혈관 내피세포 기능의 개선효과를 가지고 있다. 이에 돼지의 관상동맥 재협착 모형에서 고용량의 ALA 경구투여 및 ALA가 코팅된 스텐트의 재협착 억제효과를 알아보고자 하였다.

방 법 :

1차 실험: 총 12마리의 암돼지를 무작위로 2개의 관상동맥을 선택하여 풍선손상을 가하였다. 풍선손상 4주 후 24개의 3.0×18 mm의 일반 금속 스텐트를 풍선손상을 가하였던 관상동맥에 삽입하였다. I군은 대조군(n=6), II군은 스텐트시술 후 경구로 ALA 100 mg/kg를 다시 4주간 투여한 군(n=6)으로 분류하였다.

2차 실험: 총 8마리의 암돼지를 2개의 관상동맥을 선택하

여 각각의 동맥에 무작위로 3.0×18 mm 일반 금속 스텐트 (n=8)와 ALA를 코팅한 3.0×18 mm 스텐트(n=8)를 삽입하였다. 스텐트 삽입 4주 후 추적 관상동맥 조영술을 시행한 후 돼지를 희생시켜, 스텐트를 함유하고 있는 관상동맥을 분리, 관류고정한 후 조직병리 관찰 및 측정을 시행하였다.

결 과 :

1차 실험: 조직형태학적 검사에서 손상지수, 내탄력층 면적 등은 두 군 간에 유의한 차이를 보이지 않았다. 신생내막 면적은 I군 $7.3 \pm 0.9 \text{ mm}^2$, II군 $2.2 \pm 1.1 \text{ mm}^2$ 로서 II군에서 유의하게 작았고($p < 0.001$), 면적 협착은 I군 $75.9 \pm 8.5\%$, II군 $23.5 \pm 10.5\%$ 으로 II군에서 유의하게 적었다($p < 0.001$). 신생내막의 염증세포의 비율은 I군 $51.8 \pm 16.5\%$, II군 $21.5 \pm 9.6\%$ 로서 I군에서 유의하게 많았다($p < 0.001$).

2차 실험: 조직형태학적 검사에서 손상지수, 내탄력층 면적 등은 두 군 간에 유의한 차이를 보이지 않았다. 신생내막 면적은 I군 $7.3 \pm 1.1 \text{ mm}^2$, II군 $1.4 \pm 0.8 \text{ mm}^2$ 로서 II군에서 유의하게 작았고($p < 0.001$), 면적 협착은 I군 $77.6 \pm 10.9\%$, II군 $15.6 \pm 7.6\%$ 으로 II군에서 유의하게 적었다($p < 0.001$). 신생내막의 염증세포의 비율은 I군 $63.2 \pm 23.7\%$, II군 $17.6 \pm 11.6\%$ 로서 I군에서 유의하게 많았다($p < 0.001$).

결 론 :

고용량의 경구 ALA투여 및 ALA를 코팅한 스텐트는 신생내막 증식 및 염증반응을 효과적으로 억제할 수 있었다.

중심 단어 : 관상동맥 질환 ; 재협착 ; 스텐트 ; 항산화제.

본 연구는 2005년도 보건복지부 연구비(D412-D800-0101-0006)의 지원에 의하여 이루어졌음.

REFERENCES

- Holmes DR Jr, Leon MB, Moses JW, et al. Analysis of 1-year clinical outcomes in the SIRIUS trial: a randomized trial of a sirolimus-eluting stent versus a standard stent in patients at high risk for coronary restenosis. *Circulation* 2004;109:634-40.
- Salam AM, al Suwaidi J, Holmes DR Jr. Drug-eluting coronary stents. *Curr Probl Cardiol* 2006;31:8-119.
- Leon MB, Bakhai A. Drug-eluting stents and glycoprotein IIb/IIIa inhibitors: combination therapy for the future. *Am Heart J* 2003;146 (4 Suppl):S13-7.
- Mintz GS, Tinana A, Hong MK, et al. Impact of preinterventional arterial remodeling on neointimal hyperplasia after implantation of (non-polymer-encapsulated) paclitaxel-coated stents: a serial volumetric intravascular ultrasound analysis from the ASian Paclitaxel-Eluting Stent Clinical Trial (ASPECT). *Circulation* 2003;108:1295-8.
- Nebeker JR, Virmani R, Bennett CL, et al. Hypersensitivity cases associated with drug-eluting coronary stents: a review of available cases from the Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) project. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:175-81.
- Packer L, Witt EH, Tritschler HJ. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic Biol Med* 1995;19:227-50.
- Ahn YK, Jeong MH, Kim JW, et al. Preventive effects of heparin coated stent on restenosis in the porcine model. *Catheter Cardiovasc Interv* 1999;48:324-30.
- Schwartz RS, Huber KC, Murphy JG, et al. Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: results in a porcine model. *J Am Coll Cardiol* 1992;19:267-74.
- Welt FG, Rogers C. Inflammation and restenosis in the stent era. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1769-76.
- Tanaka H, Sukhova G, Schwartz D, Libby P. Proliferating arterial smooth muscle cells after balloon injury express TNF alpha but not interleukin-1 or basic fibroblastic growth factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:12-8.
- Clausell N, de Lima VC, Molossi S, et al. Expression of tumor necrosis factor alpha and accumulation of fibronectin in coronary artery restenotic lesions retrieved by arterectomy. *Br Heart J* 1995;73:534-9.
- Lindner V, Reidy MA. Expression of basic fibroblast growth factor and its receptor by smooth muscle cells and endothelium in injured rat arteries. *Circ Res* 1993;73:589-95.
- Morice MC, Serruy PW, Sousa JE, et al. A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with standard stent for coronary revascularization. *N Engl J Med* 2002;346:1773-80.
- Abizaid A, Costa MA, Blanchard D, et al. Sirolimus-eluting stents inhibit neointimal hyperplasia in diabetic patients: insights from the RAVEL Trial. *Eur Heart J* 2004;25:107-12.
- Kang WC, Han SH, Ahn TH, Son MS, Son JW, Shin EK. The long-term clinical outcomes of primary PTCA with heparin-coated stent in acute myocardial infarction. *Korean Circ J* 2004;34:540-7.
- Park HW, Jeong MH, Park OY, et al. The Long-term clinical effects of heparin-coated coronary stent. *Korean Circ J* 2002;32:773-80.
- Kim W, Jeong MH, Lim SY, et al. The first clinical trial of antioxidant, carvedilol-eluting stent in coronary artery diseases. *Korean Circ J* 2006;36:115-20.
- Hong YJ, Jeong MH, Kim W, et al. Effect of abciximab-coated stent on in-stent intimal hyperplasia in human coronary arteries. *Am J Cardiol* 2004;94:1050-4.
- Hong YJ, Jeong MH, Kim W, et al. The effects of abciximab (ReoPro®)-coated stents on extracellular matrix synthesis and apoptosis. *Korean Circ J* 2005;35:290-301.
- Kim W, Jeong MH, Kim KH, et al. The clinical results of a platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor blocker (Abciximab: ReoPro®)-coated stent in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:933-8.
- Midaoui AE, Elimadi A, Wu L, Haddad PS, de Champlain J. Lipoic acid prevents hypertension, hyperglycemia, and the increase in heart mitochondrial superoxide production. *Am J Hypertens* 2003;16:173-9.
- Ziegler D, Hanefeld M, Ruhnau KJ, et al. Treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy with the anti-oxidant alpha-lipoic acid: a 3-week multicentre randomized controlled trial (ALADIN Study). *Diabetologia* 1995;38:1425-33.
- Suzuki YJ, Tsuchiya M, Packer L. Thiocetic acid and dihydro-lipoic acid are novel antioxidants which interact with reactive oxygen species. *Free Radic Res Commun* 1991;15:255-63.
- Scott BC, Arouma OI, Evans PJ, et al. Lipoic and dihydrolipoic acid as antioxidants: a critical evaluation. *Free Radic Res* 1994;20:119-33.
- el Midaoui A, de Champlain J. Prevention of hypertension, insulin resistance, and oxidative stress by alpha-lipoic acid. *Hypertension* 2002;39:303-7.
- Kaminski KA, Bonda TA, Korecki J, Musial WJ. Oxidative stress and neutrophil activation-the two keystones of ischemia/reperfusion injury. *Int J Cardiol* 2002;86:41-59.
- Nordberg J, Arner ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med*

2001;31:1287-312.

- 28) Sung MJ, Kim W, Ahn SY, et al. *Protective effect of alpha-lipoic acid in lipopolysaccharide-induced endothelial fractalkine expression. Circ Res* 2005;97:880-90.
- 29) Lee KM, Park KG, Kim D, et al. *Alpha-lipoic acid inhibits fractalkine expression and prevents neointimal hyperplasia after*

balloon injury in rat carotid artery. Atherosclerosis 2006 Jan 10; [Epub ahead of print].

- 30) Suzuki T, Kopia G, Hayashi S, et al. *Stent-based delivery of sirolimus reduces neointimal formation in a porcine coronary model. Circulation* 2001;104:1188-93.