

의료용 고분자재료의 칼슘화 현상

한 동 근 · 김 영 하 · 민 병 구*

머 리 말

의료용 재료 중 혈액과 직접 접촉하는 인공 장기의 경우, 특히 인공 심장 판막 및 혈액 펌프에 있어서 응혈(thrombus) 이외에도 주의를 기울여야 하는 화학적인 거부 반응이 칼슘화(석회화, calcification, 넓은 의미로 mineralization)이다. 칼슘화란 칼슘을 함유한 하이드록시아파타이트(hydroxyapatite) $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ 와 같은 몇가지 인산칼슘 화합물이나 탄산칼슘 등의 침착을 말하며, 이로 인하여 생체 재료의 응력 집중으로 물성 특히 유연성을 상실하여 결국 굴곡 파괴 및 생체내 분해를 야기하게 된다. 일반적으로 응혈은 의료용 고분자 재료가 혈액에 노출된 후 아주 짧은 시간 동안에 생기는 현상인 반면에 칼슘화는 비교적 긴 시간에 걸쳐서 일어나는 현상으로 장기간 혈액과 접촉하는 의료용 고분자 재료를 개발하는데 있어서 칼슘화의 억제는 응혈 형성의 방지보다도 오히려 더 중요한 문제가 된다.¹

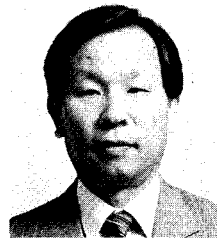
특히 생체 조직 인공 심장 판막(tissue valves)은 우수한 항응혈성에도 불구하고 칼슘화로 인하여 장기간 사용하지 못하는 실정이다. 따라서 생체 재료가 장기간 최적의 의료용 재료로 사용되기 위해서는 혈액 적합성(blood compatibility)과 더불어 항칼슘화(anticalcification)의 특성이 요구된다. 여기에서는 칼슘화의 개요, 가설, 칼슘화 방지 연구 동향 및 그 시험법과 분석 방법에 대해서 기술하고자 한다.



한 동 근
1983 한양대 섬유과 졸업
1985 한양대 섬유과 졸업
(공학석사)
1985~ 한국과학기술연구원
현재 고분자화학연구실 연구원



김 영 하
1971 서울대 화학과 졸업
1978 독일 마부르그대학 고분자화학(이학박사)
1973~ 한국과학기술연구원
현재 고분자화학연구실 실장



민 병 구
1965 서울대 전기공학과 졸업
1972 미국 더트거스대학 의용전자(공학박사)
1979~ 서울의대 의공학과
현재 교수

Calcification Associated with Biomedical Polymers

한국과학기술연구원 고분자화학연구실 (Dong Keun Han and Young Ha Kim, Polymer Chemistry Lab., KIST, P. O. Box 131, Cheongryang, Seoul 130-650, Korea) *서울대학교 의과대학 의공학과(Byoung Goo Min, Dept. of Biomed. Eng., College of Medicine, Seoul National Univ., Seoul 151-742, Korea)

칼슘화의 개요

칼슘화의 분류

칼슘화는 크게 생리적(physiologic) 칼슘화와 병리적(pathologic) 칼슘화로 나눌 수 있다.²

생리적 칼슘화는 뼈, 연골 및 치아의 상아질과 에나멜 형성 등과 같은 경조직(hard tissue)의 성장, 또는 손상된 부위의 치유 과정에서 일어나는 지극히 정상적인 현상이다. 이러한 자연적인 경조직 칼슘화는 비타민 K에 의존하여 칼슘과 결합하는 γ -카르복시글루타미산을 함유한 단백질,³ 기질 소낭(matrix vesicles),⁴ 콜라겐,⁵ 인단백질,⁶ 지질/당지질,⁷ osteonectin과 chondronectin,⁸ proteoglycans,⁸ mitochondrion의 칼슘 조절⁸ 및 몇가지 효소와 호르몬⁸ 등의 여러가지 가설적인 요인에 기인한다고 생각하고 있다.

병리적 칼슘화는 비정상적인 현상으로 전이성(metastatic) 및 이영양성(dystrophic) 칼슘화로 나누어 생각할 수 있다. 전이성 칼슘화는 혈액 또는 조직액의 칼슘 및 인산염의 농도가 비정상적으로 되어 조직내에 칼슘이 침착하는 것으로서 정상적으로 칼슘화가 일어나지 않는 다른 부위에서 발생되며, 그 예로 폐, 위벽과 신장의 척수(medulla) 등에서 볼 수 있다. 이영양성 칼슘화는 정상 칼슘치의 조직이 괴사되거나 변질시 발생하는 것으로 동맥 경화증, 대동맥 협착증, 결정 침적 관절염, 치석, 저혈의 심근 칼슘화를 포함하며 대부분의 이식된 의료용 고분자 재료도 이와 같은 칼슘화 현상이 일어난다.⁹ 특히 생체 조직 심장 판막,¹⁰ 인공 심장 펌프,¹¹ 자궁내 피임 기구¹² 및 콘택트 렌즈¹³에서 이러한 이영양성 칼슘화를 흔히 볼 수 있으며 일부 기계식 심장 판막(mechanical valves)¹⁴과 인공 혈관¹⁵에서도 발생된다. 또한 칼슘화는 삼첨형 고분자 판막¹⁶에도 작용하여 내구성에 한계를 가져오게 하고 일부 친수성¹⁷ 및 소수성¹⁸ 고분자 재료에서도 칼슘화가 확인되었다.

칼슘화의 특성

Table 1은 생체 재료와 관련한 칼슘화의 특성을

Table 1. Characteristics of Biomaterials-Associated Calcification

Substrate ; biological, bioprosthetic or synthetic
Anatomic site/model ; circulatory or connective tissue
Mineral composition and phases
Location of mineral ; intrinsic or extrinsic
Factors/determinants ; host, implant or mechanical
Crystal nucleation site ; cells and/or extracellular matrix
Pathobiology ; role of membranes, and enzymes and other macromolecules

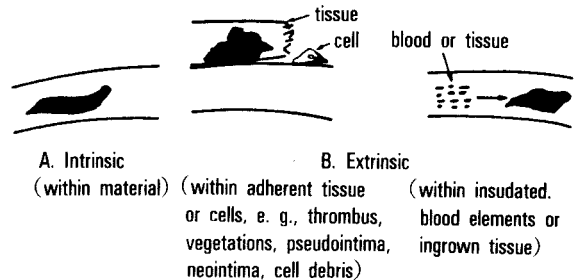


Fig. 1. Sites of localization of biomaterial-associated mineralization.

나타낸 것으로서,² 먼저 칼슘화가 일어나는 기질로는 자연 생리 조직이나 생체 및 합성 재료를 막론하고 모든 기질에서 칼슘화를 볼 수 있다. 또한 칼슘화는 생체 재료가 이식된 순환계 또는 조직과 연관된 모든 곳에서 일어나며 그 핵형성 위치에 따라 내인계(intrinsic)와 외인계(extrinsic)로 나눌 수 있다(Fig. 1). 내인계 칼슘화는 이식된 생체 재료 및 그것의 경계 내에서 칼슘화 핵이 생성되어 성장하는 반면에 외인계 칼슘화는 응혈, 증식물(vegetations)이나 유사 내막(neointima)등과 같은 처음에 이식되지 않은 성분이나 조직에서 일어난다. 일반적으로 인공 심장 판막 중 생체 조직 판막은 내인계 칼슘화가 일어나며 고분자 판막은 외인계 칼슘화가 일어나는 것으로 알려지고 있다. 칼슘화는 host의 신진대사 및 이식된 생체 재료의 구조와 화학적 특성에 크게 좌우되며, 또한 기계적으로 변형된 곳에서도 일어난다.

칼슘화의 가설

심장계 및 비심장계의 의료용 기구에서 폭 넓게 일어나는 칼슘화의 원인 및 기구는 아직까지 불확실하지만 여러 연구자에 의해서 각 자가 행한 실험을 토대로 몇가지 가설을 주장하고 있다.

기질 및 단백질의 흡착

저밀도 지방단백질(LDL)이나 긴 사슬 지방산(LCFA) 등의 혈장 지질이 고분자 표면에 흡착하여 칼슘화를 야기하는 것으로 보고 있다. 저밀도 지방단백질의 선택적인 흡착은 혈액내 칼슘의 40%을 수송하는 알부민의 흡착을 증가시켜서 이것이 고분자 표면의 칼슘화를 조장한다고 보고되고 있다.¹⁹ 또한 긴 사슬 지방산의 경우 초기에 흡착된 지방산이 고분자 표면에서 국부적인 음이온의 계면 suspension을 형성하므로 이로 인하여 칼슘 양이온의 농도가 높은 고분자 표면이 된다고 제안되었다.²⁰ 한편 Owen등²¹은 Biomer에서 콜레스테롤과 콜레스테롤 에스터의 혈장 지질을 확인한 바 있으며, 계면 활성제가 재료 표면에 흡착할 경우 표면의 자유에너지를 저하시켜서 균열의 생성과 성장을 용이하게 한다고 보고하였다.²² Anderson²³은 지질 중에서 특히 산성의 인지질의 중요성을 강조하였고 Lian²⁴은 γ -카복시글루타미산과 같은 osteocalcin(Fig. 2) 및 칼슘과 결합할 수 있는 다른 혈청 단백질에 대해서 언급하였다.

세포 성분 및 응혈의 영향

심장 순환계 및 노쇠된 혈관과 접촉하는 조직의 칼슘화는 죽거나 변성된 세포나 그 세포의 소낭막

조각 및 응혈 형성과 밀접한 관계가 있다.²⁵ 심장 보조 장치에 있어서 혈소판과 파괴된 백혈구로 부터 파생된 세포 조각이 유사 내막의 가장 아래쪽에 위치해서 이것이 칼슘화 연쇄 반응을 유발하는 막과 연관된 아파타이트의 침적을 가져온다고 기술하였다. 또한 생체 조직 판막이 이식되었을 때 초기의 칼슘화는 이식되었던 판막의 조직이 변질되어 생긴 세포 조각과 관련이 있으며 계속해서 콜라겐에 의해서 칼슘화가 더 성장하게 된다. Harasaki등²⁶은 칼슘화의 개시 현상이 변성된 세포에서 일어난다고 보았고 이러한 이영양성 칼슘화를 여러가지 생체 조직 판막이나 혈액 펌프의 표면에서 관찰했다고 보고하였다. 특히 막으로 구성된 세포의 분해 생성물은 생리적 칼슘화 작용을 하는 기질 소낭과 마찬가지로 주로 칼슘화 핵 형성을 일으키며, Pollock등²⁷은 Biomer에서 칼슘의 초기 핵형성이 칼슘화를 유발한다고 평가하였다. 또한 피사 세포로 부터 파생된 이러한 분해 생성물은 atheromatous plaques나 혈관 내벽의 응혈과 관련이 있으며 이 생성물이 식세포(phagocytic cells)에 의해서 잡혀먹히지 않기 때문에 칼슘화를 용이하게 만든다고 제안하였다.²⁸

표면의 결합

직조되거나 또는 섬모 구조의 표면은 이식후 섬유아세포(fibroblast)나 혈관 내피 세포로 구성된 유사 내막을 형성하게 되는데, 이러한 유사 내막이 두꺼워진 혈액 펌프 다이아프램의 굴곡 작동 영역에서 인산칼슘이 침적되어 칼슘화의 원인이 된다.²⁹ 그러나 평활한 표면은 이러한 현상이 없어도 칼슘화가 일어나므로 Coleman등³⁰은 미세 기포 및 균열과 같

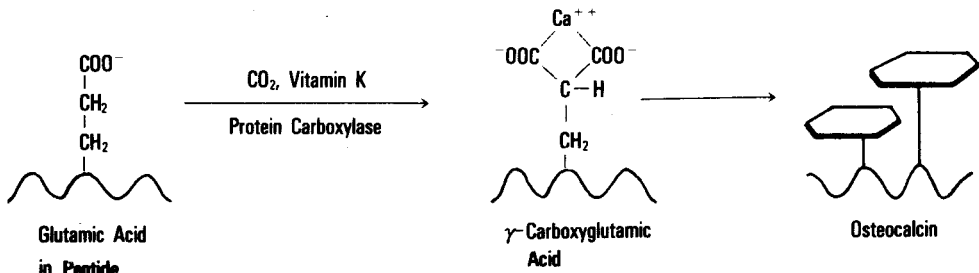


Fig. 2. Formation of osteocalcin by glutamic acid

은 표면의 결합이 칼슘화와 관련이 있다고 주장하였다. 또한 폴리올레핀 고무인 Hexsyn기질을 생물학적으로 처리한 표면에 있어서도 이와 같은 코팅면의 파괴가 관찰되었다.³¹ Harasaki등³²과 Henning 등³³도 표면의 결합에 관한 연구를 하였는데 그들은 응혈이 일어난 다음 칼슘화가 진행된다고 보고한 반면 Coleman등³⁰은 사전의 응혈 형성 없이도 칼슘화가 진행된다고 제안하였다. 양쪽 경우에 있어서 기계적 응력이 칼슘화를 가속시키는 것은 확실하나 Coleman 등은 미세한 결합은 기계적인 영향 없이도 칼슘화가 된다고 제시했다. 따라서 그들은 혈액과 접촉하는 표면에서의 미세 기포 제거와 미세 균열 방지가 칼슘화를 예방하거나, 실질적으로 감소시킬 수 있는 방법이라고 주장하였다.^{11,30} 이와같은 표면의 결합이나 미세 기포가 칼슘을 결합시키는 단백질과 지질을 축적시킴으로써 칼슘화 핵 형성의 자리로 작용하게 된다고 믿고 있다.

기계적 요인

혈액 펌프 및 고분자 심장 판막의 굴곡 표면에 있어서 칼슘 결정체의 침적은 그것들의 내구성을 제한하게 된다.^{11,34} 특히 혈액 펌프의 칼슘화는 다이아프램이 있거나 없거나 관계없이 그 굴곡축이나 영역에서 현저하게 일어나는데, 이것으로부터 기계적인 요인이 칼슘화를 증진시키는데 중요한 역할을 하는 것으로 볼 수 있다. 즉 폴리우레탄을 포함하여 일부 탄성체가 순환 응력을 받게되면 응력을 받는 영역에서 국부적인 열이 발생하게 된다. 이러한 열의 방출이 고분자의 domain 구조를 변화시켜서 인산칼슘의 침적을 용이하게 한다고 생각하고 있다.³⁵ 또한 이렇게 발생된 열이 높은 응력 영역에서 폴리우레탄과 이온의 착화 반응 속도를 실질적으로 증가시켜서 이온의 흡착이 많아져 칼슘화가 가속된다고 보고 있으며,³⁶ Wouter등³⁷도 폴리우레탄이 기계적인 굽힘 변형을 받으면 전술한 국부적인 열의 효과 이외도 재료 내부에 기공과 균열의 생성 및 재료로부터의 추출 성분에 의한 pH의 상승으로 인하여 칼슘화가 개시된다고 보고하였다.

칼슘 이온의 상호 작용

Thoma등³⁸은 폴리우레탄의 연성 segment인 폴리에테르 영역이 어떤 용액으로 부터 칼슘 이온을 추출해서 착화물을 형성한다는 것을 전자현미경 관찰로부터 확인하였다. 또한 Pollock등²⁷은 칼슘이 존재하는 폴리우레탄을 *in vivo*이식시 칼슘화가 크게 진행되었음을 기술하였다. 이러한 결과로 부터 Thoma등³⁹은 이식된 폴리우레탄의 현저한 칼슘화는 체액으로 부터 칼슘 이온을 추출해낸 결과이며 이것이 표면과 그 안쪽에 국부적으로 칼슘 농도를 서서히 증가시킨다고 가정하였다. 따라서 이러한 상호 작용이 궁극적으로는 칼슘의 침적 또는 층을 형성하는 첫번째 단계로 생각하고 있다. 또한 그들은 최근 Glasmacher등⁴⁰과 Golomb 등⁴¹이 *in vitro*에서 폴리우레탄의 칼슘화가 체액의 세포 성분 없이도 일어날 수 있다는 실험 발표에 근거를 두고 있으며 아직까지는 이 가설이 폴리우레탄에 국한되고 있다.

칼슘화 방지 연구 동향

생리적인 칼슘화와 병리적인 칼슘화의 유사성이 완전히 밝혀지지 않은 상태에도 불구하고 생체 재료의 칼슘화 방지 연구가 전술한 가설을 바탕으로 폭 넓게 행해지고 있다. 순환계 인공 장기의 칼슘화 방지 연구는 혈액 펌프와 인공 심장 판막 특히 생체 조직 판막을 중심으로 활발히 진행 중이다.

칼슘화 억제 약제의 사용

칼슘화를 방지하기 위하여 생리적 억제제인 phosphocitrate⁴² 및 그 합성체인 N-sulpho-2-amino tri-carballylate,⁴² warfarin,⁴³ coumadin,⁴⁴ diphosphonate⁴⁵와 sodium dodecyl sulfate(SDS)⁴⁶와 같은 세척제 등을 사용하고 있다. 이들 중에서 생리 및 병리학적으로 강력한 칼슘화 억제제인 diphosphonate 및 그 유도체가 여러가지 방법으로 처리되고 있다(Table 2).⁴⁷

Diphosphonates는 하이드록시아파타이트결정의 성장을 억제하는 기능을 갖고 있고 현재 뼈에 이상이 있거나 병적 칼슘화 및 칼슘치가 높은 환자에게 투여하고 있으며 구강 복용 시 흡수력이 약하기 때문에

Table 2. Inhibition of Calcification of Bioprosthetic Tissue by Host and Implant Modification*

Group	Duration (days)	Calcium ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	Inhibition (%)
Control	14	135 \pm 6	—
Control	21	155 \pm 4	—
Control	84	219 \pm 14	—
EHDP, systemic	21	4 \pm 1	97
EHDP, local(minipump)	14	4 \pm 1	97
EHDP, local(polymer)	84	16 \pm 6	93
APDP, cuspal pretreatment	21	24 \pm 7	84
EHDP, cuspal pretreatment	21	114 \pm 10	24
SDS, cuspal pretreatment	21	19 \pm 4	84

*Subcutaneous implants of glutaraldehyde-treated porcine aortic valve in 3 week old weaning rats.

매일 주사로 투입하고 있다. 그러나 이것들은 systemic투여시 뼈의 생성에 심한 부작용을 유발한다. 또한 새로운 유도체인 ethanehydroxydiphosphonate (EHDP)가 개발되었으나 이러한 부작용이 크게 감소하지 않았다. 따라서 systemic 투여가 아닌 국부적 의약 전달 제제가 근래에 활발하게 연구되고 있다. 예로서 EHDP를 에틸렌-초산비닐 공중합체나 실리 콘 고분자를 이용한 방출 조절형 약제로서 생체 조직 판막의 leaflet 근처에 이식시킬 경우 부작용 없이 칼슘화를 방지할 수 있었다.⁴⁸ 그 이유는 주사 투여 시 보다 100배나 적은 양이 작용했기 때문이며, 적절한 양의 방출과 30년 이상의 지속 효과를 보기 위해서 꽤맨 ring을 이용한 방출 조절 약제 설계나 수용성 Na_2 EHDP염과 비교적 난용성 Ca_2 EHDP염의 혼합물을 사용하는 방법이 모색 중에 있다. 또 하나의 diphosphonate 유도체로서 aminopropanehydroxy-diphosphonate(APDP)가 사용되고 있는데 이것을 생체 조직 판막의 침판(cusp) 조직에 공유 결합으로 고정시켰을 때 칼슘화가 억제됨이 확인되었으나 시간에 따라 분해되는 안정성의 문제가 있었다.⁴⁹ 방출 조절형 요법으로만 사용되어 온 기존의 EHDP에도 이러한 고정화 방법을 적용하여 조직 안에 있는 EHDP를 칼슘염으로 침전시킴으로서 침판에 미리 함유된 Ca-EHDP가 단시간 이식시 침판 칼슘화의 효과적인 억제제 역할을 하였다.⁵⁰

이와같이 많은 칼슘화 억제 방법이 실험적으로 연

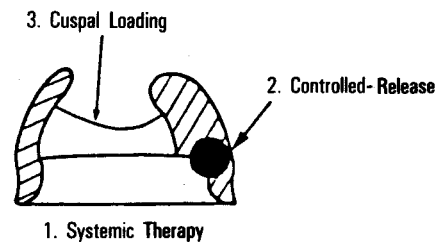


Fig. 3. Diagrammatic representation of three major generic approaches to prevent bioprosthetic heart valve calcification.

구되고 있지만 가장 잠재력이 있는 기술은 diphosphonate의 방출 조절형 요법이다. 그러나 더 효과적인 칼슘화 방지 전략으로서 앞서 언급한 각각을 종합하여 Fig. 3과 같이 systemic 주사 요법, 침판 전처리 및 약물 방출 조절형을 병행하는 방법이 제안되고 있다.²

양이온의 도입

칼슘화를 야기하는 칼슘은 양이온이므로 재료에 양이온을 미리 도입하여 전기적 반발력으로 칼슘(Ca^{++})의 흡착을 억제해 보려는 시도가 진행 중인데 주로 다음의 2가지가 연구되고 있다.

첫번째는 프로타민(protamine)을 결합하는 방법이다.^{51,52} 일반적으로 생체 조직 판막은 글루타르알데히드(GA)로 처리 제조하는데, Golomb 등은 이 GA가 생체 조직 판막의 콜라젠 중 리신(lysine)과 수산화리신 성분과 반응함으로 인하여 아미노산의

양이온과 음이온의 균형이 달라지고 따라서 칼슘 (Ca^{++})을 흡착하게 하는 자리를 만든다고 가정하였다. 그래서 그들은 염기성 단백질인 프로타민 황산염을 GA 및 포름알데히드와 함께 사용하여 소의 담낭 조직 및 콜라젠 type I에 고정화시켜서 칼슘화를 검토한 결과 프로타민을 첨가한 경우가 월등히 칼슘화가 감소함을 확인하였다. 그들은 이러한 프로타민의 칼슘화 억제 작용 기구는 프로타민 중 약 75%을 차지하고 있는 아르기닌의 고유한 양이온 때문에 칼슘의 침적을 막을 수 있고 또한 응혈 형성을 최소로 할 수 있는 항응혈성 효과 때문으로 보고 있다. 그러나 이것도 장기간의 안정성과 생체 적합성은 아직도 미지수로 남아있다.

두번째는 알루미늄으로 전처리하는 방법이다.^{53,54} 생체 조직 판막의 칼슘화는 어린 아이나 젊은 사람에게 더 자주 일어나며, 특히 신부전증 환자들은 뼈 속에 알루미늄(Al^{+++}) 축적으로 골연화증 및 병적 골절을 유발하게 된다. 이러한 관점으로부터 Webb 등은 소의 담낭을 GA로 가교 처리 후 몇가지 농도를 갖는 염화알루미늄 등의 수용액에 침지시켰을 때 미처리된 것보다 염화알루미늄과 EHDP로 처리된 것이 훨씬 칼슘화 방지 효과를 보였다고 발표하였다.

가교제의 대체

최근 생체 조직 판막에 있어서 칼슘화의 직접적인 동기가 GA가교제 자체의 영향으로 해석하고 Hara-saki 등⁵⁵은 GA대신에 카르보디이미드나 폴리에틸렌 글리콜 diglyceridyl ether를 소의 담낭에 처리하여 연구한 결과 diglyceridyl ether가 생체 조직 판막 제조 시 대체 가능한 가교제라고 제안하였으며 또한 그들은 가교 정도가 칼슘화에 중요한 역할을 한다고 가정하였다. 한편 Okoshi 등⁵⁶도 같은 맥락에서 GA 대신에 glycerol polyglycidyl ether를 콜라젠 겔 디스크에 처리한 다음 쥐에 이식하여 칼슘이 더 적게 침적되는 것을 확인하였다.

평활 표면

칼슘화가 재료 표면의 미세 결함 또는 미세 기포에 기인한다는 가설 하에 인공 심장용 폴리우레탄의 다이하프램의 표면을 결함없이 제작함으로써 칼슘화를

억제하려는 노력을 계속하고 있으며 이러한 시도는 유태대에서 인공 심장 개발 및 임상 시험 결과 성과를 확인할 수 있었다.

칼슘화의 시험법

In vitro 시험

칼슘화 현상을 간단하고 쉽게 관찰할 수 있는 방법이 *in vitro* 시험으로, 전술한 것 처럼 응혈 형성이나 변성된 세포 조각에 의해서 하이드록시아파타이트가 형성된다고 알려졌기 때문에 칼슘화의 시험은 체액 성분을 포함한 용액 하에서 행하여졌다. 그러나 최근 폴리우레탄의 이식 재료가 체액의 세포 성분 없이도 칼슘화가 일어난다고 보고된 이래³⁸ 세포 성분이 없는 용액 하에서 많은 연구가 진행되었다. 즉 하이드록시아파타이트와 비슷한 비율의 칼슘과 인산염을 함유한 유사 용액,^{41,57,58} 혈장⁴⁰이나 혈청 매체^{59,60} (Table 3) 등을 이용하여 정적 및 동적인 방법으로 *in vitro* 시험을 행하여 칼슘화가 일어남을 확인하였다. 그러나 *in vitro* 시험 결과 칼슘화가 거의 발생되지 않은 고분자 재료일지라도 장기간의 *in vivo* 조건에서 칼슘화가 진행된 경우가 많으므로 칼슘화 현상을 예측하기는 쉽지 않다.

In vivo 시험

In vivo 칼슘화는 임상 및 동물 시험을 통해서 연구되고 있다. 임상적으로는 순환계 인공 장기 중 주로 생체 조직 판막에서 칼슘화를 확인하였다. 돼지의 대동맥 판막, 소의 심낭이나 사람의 사체 판막을 인

Table 3. Composition of Physiologic Serum Solution

Reagent	Composition (g/dl)
Albumin	5.0
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	0.065
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.007
CaCl_2	0.028
KCl	0.030
NaCl	0.819
NaN_3	0.2

공 판막으로 사용할 때 어린이와 청소년은 약 4년만에 칼슘화가 생기는 반면 어른의 경우는 5년이상 동안 칼슘의 침착이 없었다.⁶¹ 또한 실험실적으로 몸체가 비교적 큰 소나 양에 생체 조직 판막을 이식 시 6개월 이상 동안 칼슘화가 일어나지 않음을 보고하였고^{62,63} 토끼나 쥐의 피하(subcutaneous)조직에 돼지의 대동맥 판막의 침판 형태로 이식 시 토끼는 6개월, 쥐는 3주의 비교적 짧은 시간에 칼슘화가 일어남을 관찰하였다.^{64,65} 그러나 아직까지는 고분자 재료를 이용하여 칼슘화의 동물 및 임상 실험은 많이 보고되지 않고 있는 실정이다.

칼슘화의 분석

생리적 및 병리적 칼슘화는 다음과 같은 3가지의 분석 방법에 의해서 평가하고 있다.⁸

총체적 및 광학현미경 분석

칼슘화 시료를 먼저 육안으로 확인하거나 광학 및 방사선 사진을 찍어서 판단하며 또한 칼슘 등을 조직 화학적인 면에서 여러가지 방법으로 staining하여 현미경으로 관찰할 수도 있다.^{8,66}

미세 구조 및 결정 구조 분석

통상 칼슘 침착의 모폴로지는 주로 주사식 전자현미경(SEM)에 의해서 관찰하고 energy dispersive analysis of X-ray(EDAX)를 사용하여 광물질의 농도와 위치를 결정함으로써 칼슘 이온이나 주요한 음이온 함유 염을 정량적으로 분석할 수 있으며, 때때로 ATR-IR, ESCA나 AES로 칼슘화된 재료의 표면 조성을 평가할 수도 있다. 또한 X-ray 회절법이나 투과식 전자현미경(TEM)에 의해서 침착된 광물질이 하이드록시아파타이트와 유사한 결정 구조를 가지고 있는지의 여부를 확인할 수 있다.⁶⁵

화학적 및 생화학적 분석

일반적으로 하이드록시아파타이트의 칼슘/인의 무게비는 약 2.16이므로 원자 흡수 분광기에 의한 칼슘 분석과 비색법⁶⁷이나 Chen방법⁶⁸에 의한 인 분석을 각각 행하여 칼슘/인의 비율을 결정함으로써 칼슘화된 물질의 성분을 고찰할 수 있고, 단순히 용액의

칼슘 농도를 *o*-cresol phthalate complexon(OCPC) 방법으로 측정할 수도 있다.⁵⁹ 또한 조직의 칼슘화와 관련하여 비타민 K에 의존해서 칼슘과 결합하는 γ -카르복시글루타미산을 함유한 단백질을 측정함으로써 칼슘화의 정도를 파악할 수 있다.^{24,69}

맺 는 말

지금까지 의료용 고분자 재료 중 주로 연조직(soft tissue)과 관련한 칼슘화 현상을 논하였다. 전술한 칼슘화의 가설에서와 같이 칼슘화는 여러가지 요인에 발생하는데 이를 방지하기 위해서는 무엇보다도 먼저 정확한 칼슘화 현상 기구를 규명해야 하겠고, 생체 재료의 개질 및 약물 방출 조절을 통하여 칼슘화 방지 연구에 더 좋은 효과를 기대할 수 있다. 특히 생체 재료의 개질 방법은 응혈과 색전(embolus)을 억제하고 또한 감염을 줄일 수 있기 때문에 칼슘화 억제 방법으로 더욱 유리할 것으로 생각된다. 또한 칼슘화는 혈액 적합성과 상호 밀접한 관계가 있으므로 먼저 항응혈성 고분자 재료를 만든 다음 이를 칼슘화 억제 기능성 재료로 응용하는 것도 바람직하다. 한편 확실한 *in vitro* 및 *in vivo* 칼슘화의 시험 방법이 정립되어 있지 않으므로 이들 시험법을 확립하는 것도 칼슘화의 방지 대책 못지 않은 중요한 과제이다.

참 고 문 헌

1. S. D. Bruck, Proc. IUPAC 28th Macromolecular Symp., Amherst, Mass., 1982, p. 403.
2. F. J. Schoen, et al., *J. Biomed. Mater. Res. : Appl. Biomater.*, **22(A1)**, 11 (1988).
3. P. A. Price, et al., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **73**, 1447 (1976).
4. H. C. Anderson, *Fed. Proc.*, **35**, 105 (1976).
5. M. J. Glimcher, "Handbook of Physiology 7 : Endocrinology", Vol. VIII, Washington D. C., Amer. Physiol. Soc., 1976, p. 25.

6. M. J. Glimcher, *J. Dent. Res.*, **58(B)**, 790 (1979).
7. A. L. Boskey, *Clin. Orthop.*, **157**, 237 (1981).
8. "Guidelines for Blood-Material Interactions", National Institutes of Health, No. 85-2185, 1985, p. 331.
9. H. C. Anderson, *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **107**, 341 (1983).
10. F. J. Schoen, *J. Cardiac Surg.*, **2**, 65 (1987).
11. D. L. Coleman, *TASAIO*, **27**, 708 (1981).
12. S. R. Khan, et al., *Human Pathol.*, **16**, 732 (1985).
13. M. Ruben, et al., *Br. J. Ophthalmol.*, **59**, 141 (1975).
14. F. J. Schoen, et al., *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **88**, 208 (1984).
15. S. A. Wesolowski, et al., *Surgery*, **50**, 91 (1961).
16. S. L. Hilbert, et al., *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **94**, 419 (1987).
17. J. H. Kronman, et al., *Biomat. Med. Dev. Artif. Organs*, **7**, 299 (1979).
18. D. W. Urry, *TASAIO*, **27**, 690 (1981).
19. D. E. Dong, et al., *Polym. Prepr.*, **24**, 40 (1983).
20. D. R. Owen, et al., *TASAIO*, **27**, 528 (1981).
21. D. R. Owen, et al., 5th Annu. Meeting Soc. Biomaterials, Clemson, S. C., 1979.
22. A. Takahara, *Kobunshi Kako*, **38(8)**, 10 (1989).
23. H. C. Anderson, *TASAIO*, **27**, 702 (1981).
24. J. B. Lian, *TASAIO*, **27**, 683 (1981).
25. H. C. Anderson, *Trans. Soc. Biomat.*, **10**, 282 (1987).
26. H. Harasaki, et al., *TASAIO*, **31**, 489 (1985).
27. E. Pollock, et al., *TASAIO*, **27**, 405 (1981).
28. K. M. Kim, *Surv. Synth. Pathol. Rev.*, **2**, 215 (1983).
29. R. L. Whalen, et al., Proc. Contractors Conf., Devices and Tech. Branch, NIH, 1979, p. 113.
30. D. L. Coleman, et al., *TASAIO*, **27**, 97 (1981).
31. Y. Nose, et al., Proc. Contractors Conf., Devices and Tech. Branch, NIH, 1977, p. 63.
32. H. Harasaki, et al., *TASAIO*, **25**, 305 (1979).
33. E. Henning, et al., *ASAIO(abstract)*, **10**, 27 (1981).
34. C. B. Wisman, et al., *TASAIO*, **28**, 164 (1982).
35. H. Harasaki, *Trans. Soc. Biomat.*, **10**, 280 (1987).
36. M. N. Riddell, et al., *Polym. Eng. Sci.*, **6**, 363 (1966).
37. L. H. G. Wouters, et al., "Polyurethanes in Biomedical Engineering II", Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1987, p. 169.
38. R. J. Thoma, et al., *Proc. ACS Div. Polym. Mat. : Sci. & Eng.*, **53**, 11 (1985).
39. R. E. Phillips, et al., "Polyurethanes in Biomedical Engineering II", Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1987, p. 91.
40. B. glasmacher-Seiler, et al., *Proc. 8th Europ. Conf. Biomat.*, **54** (1989).
41. G. Golomb, et al., *Trans. Soc. Biomat.*, **13**, 129 (1990).
42. R. Shanker, et al., *Atherosclerosis*, **52**, 191 (1984).
43. W. S. Pierce, et al., *Science*, **208**, 601 (1981).
44. S. D. Hughes, et al., *TASAIO*, **30**, 75 (1984).
45. R. J. Levy, et al., *Circulation*, **71**, 349 (1985).
46. R. J. Levy, et al., *CRC Crit. Rev. in Biocompat.*, **2**, 147 (1986).
47. R. J. Levy, *Trans. Soc. Biomat.*, **10**, 283 (1987).
48. G. Golomb, et al., *J. Cont. Rel.*, **4**, 181 (1986).
49. C. L. Webb, et al., *TASAIO*, **33**, 592 (1987).
50. T. P. Johnston, et al., *Trans. Soc. Biomat.*, **10**, 178 (1987).
51. G. Golomb, et al., *Trans. Soc. Biomat.*, **10**, 179 (1987).
52. G. Golomb, et al., *Trans. Soc. Biomat.*, **12**, 118 (1989).
53. C. L. Webb, et al., *TASAIO*, **34**, 855 (1988).
54. C. L. Webb, et al., *Trans. Soc. Biomat.*, **13**, 89 (1990).
55. H. Harasaki, et al., *Trans. Soc. Biomat.*, **13**, 25 (1990).
56. T. Okoshi, et al., *ASAIO(abstract)*, **19**, 45 (1990).
57. R. E. Phillips, et al., *Polym. Mater. Sci. Eng.*, **62**,

- 787 (1990).
58. R. J. Adamic, et al., *J. Colloid Interface Sci.*, **124(1)**, 111 (1988).
59. M. Akita, et al., *Jpn. J. Artif. Organs*, **18(1)**, 123 (1989).
60. V. I. Sevastianov, et al., *Artif. Organs*, **13(4)**, 364 (1989).
61. A. S. Geha, et al., *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **78**, 351 (1979).
62. G. R. Barnhart, et al., *Am. J. Pathol.*, **49**, 106 (1982).
63. R. J. Levy, et al., *Ann. Thorac. Surg.*, **36**, 187 (1983).
64. M. C. Fishbein, et al., *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **83**, 602 (1982).
65. R. J. Levy, et al., *Am. J. Pathol.*, **113**, 143 (1983).
66. S. M. McGee-Russel, *J. Histochem. Cytochem.*, **6**, 22 (1958).
67. C. H. Fiske, et al., *J. Biol. Chem.*, **66**, 375 (1936).
68. P. S. Chen, et al., *Anal. Chem.*, **28**, 1756 (1956).
69. R. J. Levy, et al., *J. Clin. Invest.*, **65**, 563 (1980).