PEO-SO_3를 이용한 항석회화 조직첨포의 개발(II)

-동맥과 복막 이식 실험연구-

김 형 묵* · 백 만 종* · 김 광 택* · 이 인 성*
김 학 제* · 이 원 규** · 박 기 동**

=Abstract=

Development of Calcification-resistant Bovine Pericardium with PEO-SO_3(II)

-An implantation study of bovine pericardium at artery and peritoneum-

Hyoung Mook Kim, M.D. *, Man Jong Baek, M.D. *, Kwang Taik Kim, M.D. *,
In Sung Lee, M.D. *, Hark Jei Kim, M.D. *, Won Kyu Lee, Ph.D. **, Ki Dong Park, Ph.D. **

Background: Calcific degeneration limits durabilities of the bioprosthetic tissues implanted in the human body. The direct coupling sulphonated polyethyleneoxide(PEO-SO_3) to the bioprosthetic tissues after glutaraldehyde(GA) fixation and the removal of residual aldehyde groups from the tissues can augment the effect of calcification-resistance. ***Material and Method:*** To study the anti-calcification effect by PEO-SO_3 modification and the removal of the residual aldehyde groups of tissues, surface modified bovine pericardia(BP-PEO-SO_3) were preserved in aseptic saline to wash out GA(saline group) and 0.65% GA solution(GA group). And then above two groups and PERIGUARD® (Bio-vascular. Co.) (product group) were evaluated with respects to calcium contents and microscopic findings using in vivo implantation models at carotid and femoral artery and peritoneum of 8 adult dogs. ***Result:*** In the tissues retrieved from carotid artery, calcium content was significantly decreased in saline group than in other two groups(saline; 2.89 ± 0.31 vs. GA; 6.14 ± 1.08 vs. product; 22.82 ± 5.00 mg/g of dried tissue; $p<0.05$). In the tissues retrieved from femoral artery and peritoneum, calcium amount was also decreased in saline group than in other two groups, but not reached the significant difference between groups. On the other hand, the pathologic findings of pericardial tissues showed marked destructuction in GA group compared to the other two groups. ***Conclusion:*** In this study, covalently PEO-SO_3 bound to bovine

* 고려대학교 의과대학 흉부외과학 교실
Department of Thoracic & Cardiovascular Surgery, Korea University, College of Medicine
** 한국과학기술원 고분자화학 연구소
Polymer Chemistry Laboratory, Korea Institute of Science and Technology
† 본 연구는 1995년 보건복지부 G7 의료공학 선도기술개발과제 지원비에 의해 연구되었음
‡ 본 연구는 1997년 제 29차 대한흉부외과학회 추계학술대회에서 구연되었음
논문접수일 : 98년 5월 21일 심사통과일 : 98년 7월 14일
책임저자 : 김형묵, (136-705) 서울특별시 성북구 안암동 5가 126-1, 고려대학교 흉부외과학교실. (Tel) 02-920-5307, (Fax) 02-928-8793
본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

pericardium decreased calcifications and the anti-calcification effect of BP-PEO-SO_3 could be augmented by the washing out the residual aldehyde groups using saline after GA fixation. Conclusively, the PEO-SO_3 modified bovine pericardium is highly resistant to calcification and can be useful for the development of calcification-resistant cardiovascular patches and valves.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1998;31:1023-30)

Key word : 1. Calcinosis
2. Pericardial patch

서 론

글루타르알데하이드(GA)로 처리한 소 심막이나 돼지의 대동맥판등은 임상적으로 광범위하게 사용되고 있지만, 이들 조직들에서 발생되는 석회화는 장기적인 내구성 유지를 어렵게 하는 가장 중요한 원인의 하나이다[1,2]. 그렇지만 조직첨포나 판막등은 항혈전성과 중심혈류 유지등에서 기계판보다 우수하고, 특히 항응고제의 투여 유지가 어려운 소아나 임신 연령기의 여자들에게 유용하여 앞으로도 계속 사용가능한 이상적인 조직 대치물의 하나이다[3]. 그러나 이러한 조직들에서 석회화는 임상적으로 반드시 발생하게 되는데, 그 기전에 대해서는 화학적 처치[4], 면역반응[5], 기계적인 스트레스[6], 단백질과 세포들의 침착[7]등에 의한 여러 인자들에 의해 유발e 된다고 알려져 있으나, 아직 정확하지는 않다. 이러한 조직내 석회화는 생체조직을 이용한 다른 고분자 생체물에서도 발생되는데, 특히 심실보조장치나 인공심장의 폴리우레탄주머니, 인공 조직판막 혹은 폴리머 판막등에서도 석회화가 발생되어 내구성 유지에 어려운 문제가 있다[2,8]. 한편 이러한 글루타르알데하이드 처리 조직들의 생체내에서의 석회화 방지를 위한 Diphosphonate[9], 양이온성 금속염($AlCl_3$, $FeCl_3$)[10], 표면활성제(sodium dodecyl sulphate[11], amino oleic acid[12])와 같은 항칼슘 처리제나 콜라젠 표면 수정법[13,14], 교차반응물(cross-linkers)인 에폭시 화합물[15]등에 대한 연구가 있었지만 아직 효과적인 방법에 대해서는 논란의 여지가 있다. 한편 박기동 등은 술폰산화 폴리에틸렌옥사이드(PEO-SO_3)로 처리한 폴리우레탄(PU)이 PEO분자의 낮은 접촉면 자유에너지, 비점착성 및 유동성 효과, 음전하를 갖는 술폰산기의 상승효과에 의해 생체내 혈액 적합성 및 안정성과 항칼슘성 등이 향상되었다고 보고하였는데[16~18], 공유결합을 갖는 PEO-SO_3는 조직내 공간 충전제(space filler)로 작용하고 PEO분자와 술폰산기의 상승효과에 의해 칼슘 침착을 방지한다고 하였다. 본 저자들의 연구보고[19]에서도 PEO-SO_3로 처리한 소 심낭 첨포의 혈관 이식시 조직 첨포내 침착되는 칼슘량이 처리하지 않은 첨포에 비해 현저히 감소되는 소견을 보였다.

Table 1. Experimental protocols of anticalcification effects of PEO-SO_3.

1. Comparison of 3 groups
   BP-PEO-SO_3 group-preserved in saline (saline group)
   BP-PEO-SO_3 group-preserved in glutaraldehyde (GA group)
   PERIGUARD (Bio-vascular. Co) (product group)
2. Implantation at carotid, femoral artery & peritoneum for 6 wks & retrieval
3. Analysis of deposited amount of Ca & microscopic pathologic findings

PEO-SO_3; sulphonated polyethyleneoxide,
BP; bovine pericardium

본 연구에서는 이러한 연구 결과를 기초로 소 심낭 조직을 PEO-SO_3로 표면 처리 후 조직내 잔유 알데히드기를 제거하여 동물에 이식하여 석회화 방지 효과를 알아보고, 또한 이러한 처리 방법이 다른 기존의 조직 패취 상품과 비교하여 칼슘 침착량을 알아보고자 하였다. 화학적으로 표면처리한 소 심낭 첨포를 개의 동맥 및 복막에 이식하여 칼슘량을 정량분석하고 조직검사 소견을 비교하였다.

대상 및 방법

1. 실험대상

실험은 한국산 잡견(25~30 kg) 8마리를 대상으로 하여 GA로 고정 후 PEO-SO_3 항석회화 처리된 소 심막 첨포를 글루타르알데하이드에 보존한 군(GA군), 무균 생리식염수에 실험전까지 약 4주 정도 보관한 군(Saline군), 그리고 이미 상품화되어 임상에서 사용되고 있는 조직 패취인 PERIGUARD ® (Bio-vascular. Co., USA) (Product군)를 경동맥과 좌우 대퇴동맥, 복막에 이식하여 조직 첨포의 칼슘 침착량을 비교하고 리조직 변화를 관찰하였다(Table 1). 실험견은 수술 7일 전부

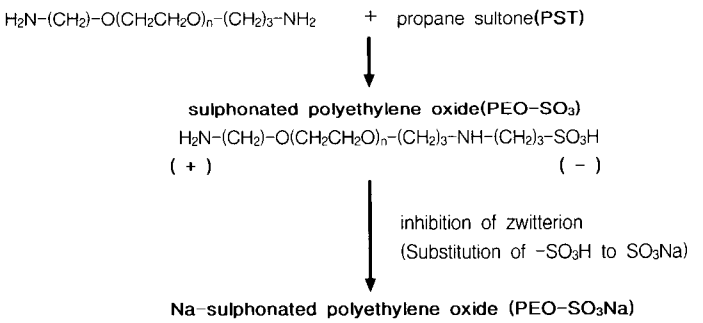

Fig. 1. Synthesis reaction of PEO-SO_3Na

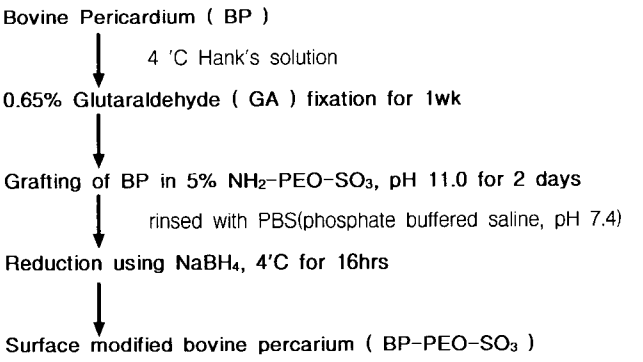

Fig. 2. Schematic representation of modification of BP-PEO-SO_3

터 동물실험실에서 전문관리인이 사육하여 동일 실험조건을 갖추도록 하였고, 실험 전 6시간부터 금식시켰다.

2. PEO-SO3의 합성

본 실험에서 이용한 술폰산화 폴리에틸렌옥사이드(PEO-SO_3)는 chloroform속에 녹아 있는 Amino-terminated polyethyleneoxide(AT-PEO; MW 1,000; Nippon Oil and Fats, Japan)를 핵산속에서 추출하여 실온의 진공상태에서 건조시켜 제조한 다음, 1,3-Propane sultone(PST; Aldrich Chemical Co., U.S.A.) 용액을 감압 (180℃/0.5mmHg) 증류법에 의해 정제를 하여 AT-PEO와 PST를 50℃에서 5시간 동안 반응시키면 합성되는데 이러한 술폰산화 PEO는 자체의 양말단에 음이온의 술폰산기와 양이온의 아미노기를 가지고 있어 특히 수용액에서 zwitterion을 형성하여 조직 첨포와의 반응이 잘 일어나지 않으므로, 이 zwitterion의 형성을 방지하기 위해서 술폰산기의 수소($-SO_3H$)를 나트륨으로 치환($-SO_3Na$)하여 수용액 상태하의 술폰산염화 PEO를 합성하였다(Fig. 1).

3. PEO-SO_3 처리 소 심막 첨포 제조 및 보존

도살장에서 채취한 소 심낭의 지방질을 제거하고 4℃ Hank's 용액에 처리하여 가용성 단백질을 제거한 후 조직 첨포의 형태를 유지하기 위한 다듬기 및 고정작업을 하였다. 다음으로 신선한 25% 글루타르알데하이드(GA: electron microscopy grade; Sigma chemical Co., U.S.A.)용액을 0.05mol/L의 phosphate buffered saline(PBS; pH 7.4)와 희석하여 제조한 0.65% GA 용액에 소 심낭 조직을 일주일 동안 4℃에서 보관하면 GA의 알데하이드기(aldehyde group)가 소 심막 조직(collagen)의 아미노기와 가교(cross-linking)를 형성하게 된다. 이때 한쪽의 알데히드기만 조직과 결합하고 나머지 한쪽은 잔유 알데히드기로 유리된다. 이때의 조직 첨포와 GA의 가교 형성 여부는 amino acid analyser(Waters Pico Tag HPLC system, U.S.A.)로 아미노산 구성 성분을 분석하여 lysine양이 감소되는 것을 통해 확인하였다. 이 조직을 sodium borate buffer에 녹아있는 5% PEO-SO_3 용액(pH 11.0)에 넣고 상온에서 2일 동안 교반시키면서 반응시키면 미반응 상태의 잔유 알데히드기가 PEO-SO_3와 직접 Schiff 염기를 형성하면서 결합을 하게 된다. 이때의 조직과 PEO-SO_3의 결합정도는 조직내의 sulphur양의 증가를 element analyser(Fisons EA 1108, Italy)로 측정하여 확인하였다. 최종적으로 이 조직을 PBS로 10번 정도 세척한 후, 환원제인 0.01mol/L NaBH4로 16시간 동안 4℃에서 환원시켜 안정한 결합을 갖는 개질 생체 조직 첨포(BP-PEO-SO_3)를 제조하였다(Fig. 2).

이 조직 첨포를 GA군에서는 가장 일반적인 보존 방법인 0.2% GA속에 4℃에서 보존하였고 saline군에서는 GA가 심낭 조직과 가교를 형성하고 남은 잔유 알데히드기를 제거하기 위해 무균 생리식염수에 보존하였다.

4. 조직 첨포 이식 및 결과 분석

실험견을 케타민(5-10mg/kg)과 펜토탈소디움(5-15mk/kg)으로 마취를 유도 후 기관내 삽관을 한 다음 Harvard respirator에 연결하여 마취를 유지하였으며 간헐적으로 근이완제를 투여하면서 심전도를 모니터하였다. 좌측 경부 전방, 양측 사타구니, 복벽 전방 부위의 털을 깍은 다음 경동맥과 대퇴동맥, 복막을 노출시켰으며 동맥에서는 이식부위의 근위부와 원위부를 각각 겸자로 차단한 다음 동맥을 약 1.5 cm 길이로 종절개한 후 조직 패취를 1×1.5 cm 크기로 준비하여 6-0 polypropylene으로 연속봉합하였고, 복막에서는 약 2×2 cm 정도의 난원형 모양으로 결손을 만든 후 조직 첨포를 이용

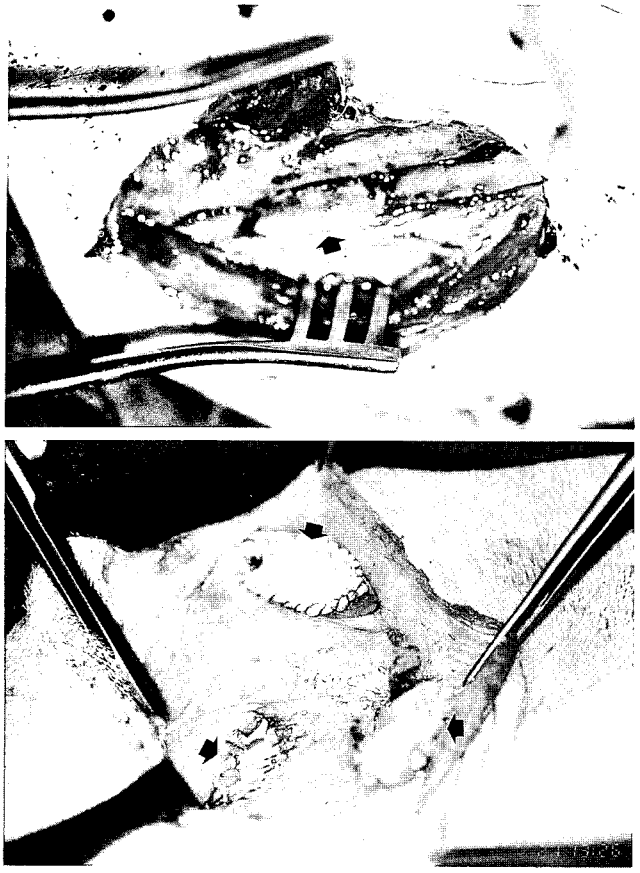

Fig. 3. Photographs of bovine pericardial patches implantated at artery (upper, black arrow) and peritoneal defects (lower, black arrow).

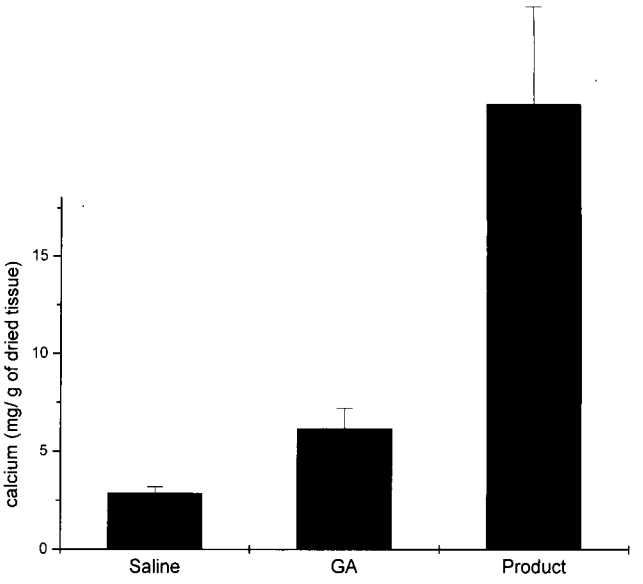

Fig. 4. Calcium content of tissue patches implanted at carotid artery after 6 weeks.
p=0.001 between saline and product groups and between GA and product group.
p=0.680 between saline and GA groups.
GA; glutaraldehyde

하여 복막 재건을 하였다(Fig. 3). 감염 예방을 위한 항생제는 cephalosporin을 실험 전과 실험 후 7일까지 매일 두 번씩 투여하였다. 6주간의 관찰 기간을 가진 후 다시 이식 첨포 주위의 정상 혈관조직을 포함해 en bloc으로 조직 첨포를 채취하여 이 조직을 증류수로 여러 번 세척하여 생성된 혈전을 제거하고 조직 일부는 6N 염산으로 가수분해시킨 다음 inductively coupled plasma atomic emission spectrometer(ICP: Plasmascan 710, Lattam Co. USA) 로 침착된 칼슘량을 정량분석하였다. 나머지 조직은 neutral buffered formalin으로 고정화시킨 후 에탄올 용액으로 탈수시켜 Masson's trichrome과 elastic stain을 한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

정량된 칼슘의 양은 평균±표준편차로 표시하였으며, 유의성의 검정은 개인용 컴퓨터로 통계프로그램인 SPSS 7.0 (SPSS Inc.)를 이용하여 Kruskal -Wallis test를 사용하여 P값이 0.05 이하인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

GA로 일주일 동안 고정 후 PEO-SO_3로 항석회화 처리된 소 심막 조직 첨포를 글루타르알데하이드에 보존한 군(GA군)과 생리식염수에 보존하여 조직내 잔유 알데히드기를 제거한 군(saline군), 그리고 이미 상품화되어 있는 조직 패취(product군)를 경동맥과 좌우 대퇴동맥, 복막에 이식하여 조직 패취에 침착된 칼슘량을 분석하였다.

경동맥에 이식한 조직 첨포에서 칼슘량은 건조한 조직 첨포 1 g당 saline군 2.89±0.31 mg, GA군 6.14±1.08 mg, product군 22.82±5.00 mg으로 통계적으로 유의한 차이로 saline군에서 가장 적었으며 다음으로 GA군, product군 순서로 적었다(Fig. 4). 대퇴동맥에서는 saline군 1.34±0.26 mg, GA군 3.87±1.35 mg, product군 5.73±1.77 mg으로 saline군에서 가장 적었으며 다음으로 GA군, product군 순으로 적었으나 통계적인 유의성은 없었다(Fig. 5). 복막에 이식한 조직 첨포에서의 칼슘량은 saline군 8.03±0.60 mg, GA군 16.26±1.04 mg, product군 13.89±3.09 mg으로 saline군에서 가장 적었고 다음으로 product군 GA군 순으로 적었으나 통계적인 유의성은 없었다(Fig. 6). 한편 조직병리 검사에서는 세 군 모두에서 혈관내막 및 중막 증식이 유사하게 관찰되었으며 혈관에 이

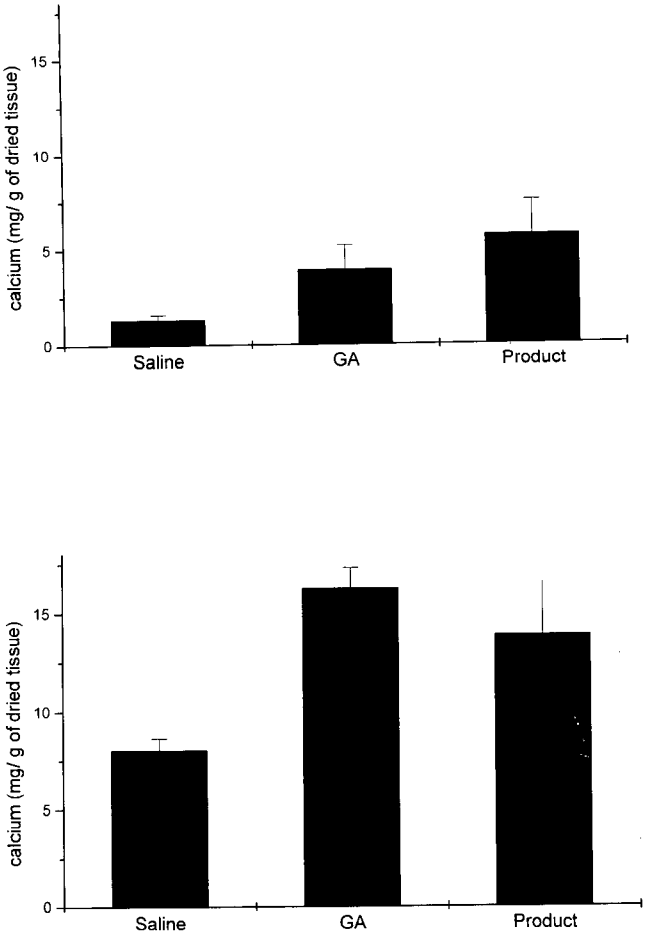

Fig. 6. Calcium content of tissue patches implanted at peritoneum after 6 weeks. p value; not significant between groups
GA; glutaraldehyde

Table 2. Pathologic findings of patches implanted at arterial positions

group	Saline	GA	product
Neointima formation	++	++	++
Reendothelialization	++	++	++
Medial hypertrophy	++	++	++
Calcific degeneration	++	+++	+++

+ ; mild, ++;moderate, +++; severe
GA; glutaraldehyde group

식한 조직 첨포의 석회화로 인한 변성은 세 군 모두에서 발생하였으나 GA군과 product군에서 더 심하였으며, 복막 이식 조직에서는 product군에서 조직 첨포 주위의 섬유화가 적게 관찰되었다(Table 2, Fig. 7).

고 찰

심혈관 수술에서 조직 첨포나 판막은 항혈전성 및 혈액적합성이 높고, 항응고제 투여가 필요없고 혈역학적으로 기계판이나 인조 패취보다 우수하기때문에 이상적인 이식 대치물로써 임상적으로 광범위하게 사용되고 있다. 하지만 이들 조직들에서 석회화는 장기적인 내구성 유지가 어려워재수술 등 임상적으로 매우 중요한 문제를 초래한다. 석회화 반응은 숙주와 이식물 사이에 여러 물리적, 화학적 요인들이 복합적으로 작용하여 일어나는데, 숙주인자에서 가장 중요한 요인은 칼슘 침착이다. 이러한 석회화 반응을 방지하고자 하는 여러 연구들이 진행되어 왔지만 완전한 항석회화 방법에 대해서는 아직도 정설이 없다.

본 연구에서는 조직을 GA 용액에 고정 후 양말단에 아민기(NH_2)를 가진 amino-terminated polyethyleneoxide(AT-PEO)와 술폰산기(SO_3)를 가진 1,3-Propane sultone(PST)를 반응시켜 만든 PEO-SO_3로 조직 첨포를 처리하여 항석회화 효과를 알아보고자 하였다. 임상적으로 조직 첨포의 고정에 GA를 많이 사용하는데 GA는 조직 단백질(collagen)의 아민기와 반응시 주로 lysine부위에 가교(cross-link)를 형성한다[20]. GA로 조직 판막이나 첨포를 처리할 경우 일어나는 칼슘 침착은 대부분 GA에 의한 이러한 가교 형성이 주된 요인으로 생각되어지며, 이것은 조직을 GA와 반응시킨 후 조직내의 lysine양이 감소하는 것을 확인하여 알 수 있다[20]. 한편 PEO-SO_3는 조직 사이의 공간충전(space filling)효과, 칼슘 침착 인자의 하나인 콜라젠의 카르복실기 blocking 효과, 술폰산기의 음전하 이온효과, PEO 분자구조의 비점착성 및 유동성과 접촉면의 낮은 자유에너지 효과 등 여러 복합적인 상승 작용으로 조직의 안정성을 향상시키고 항칼슘 특성을 조직 패취에 부여하는 것으로 알려져 있다[16~20]. 하지만 PEO-SO_3는 수용액 상태에서 양말단에 양이온의 아민기와 음이온의 술폰산기를 갖고 있어 zwitterion을 형성하여 패취 조직과의 반응을 어렵게 만들기때문에 SO_3H기의 H이온을 Na로 치환후 PEO-SO_3Na 상태로 조직 첨포를 처리하였다.

본 연구 결과 PEO-SO_3 처리 조직 첨포의 칼슘량이 다른 상품 조직 패취인 PERIGUARD® (Bio-vascular. Co., U.S.A.)에 비해 감소하였다. 비록 정확한 기전이 아직 확실히 밝혀지지는 않았지만 조직 첨포를 생체내 이식시 칼슘 침착 방지를 위해 PEO-SO_3 처리가 매우 효과적인 한 방법이 될 수 있다고 생각된다. 한편 GA는 조직과 가교를 형성하고 난 후 반응하지 않은 잔유 알데히드기 또한 칼슘 침착반응을 일으키게 된다. 본 연구에서는 PEO-SO_3의 아미노기와 잔유 알데히

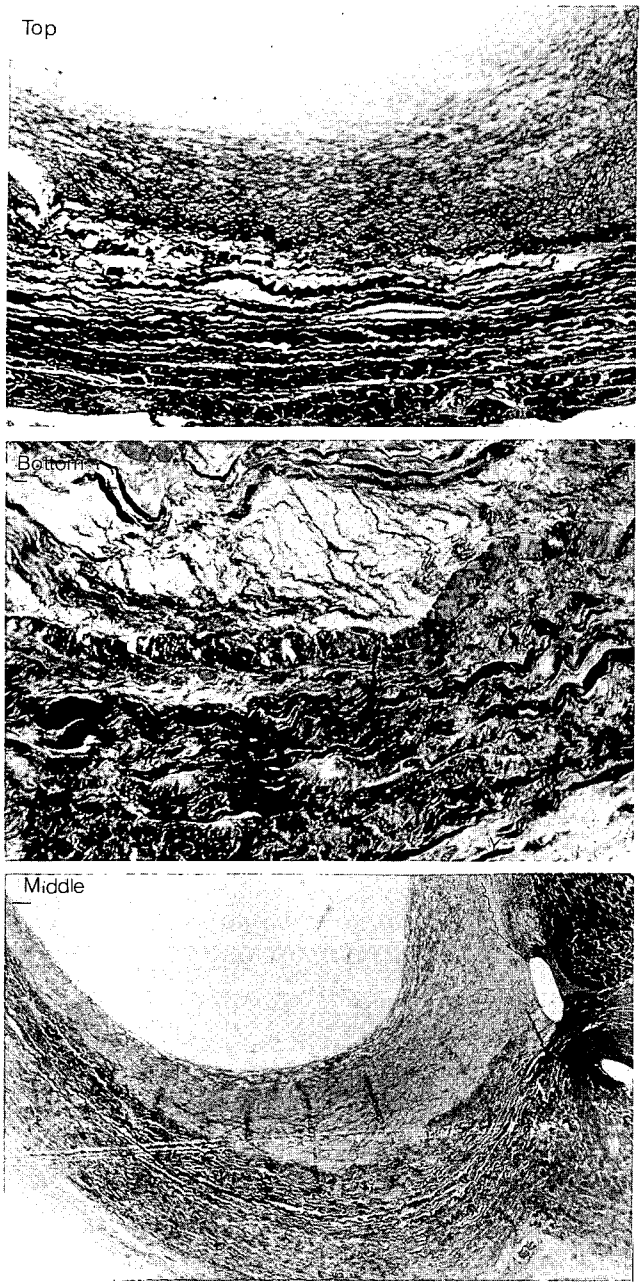

Fig. 7. Microscopic findings of bovine pericardial tissue patches implanted at artery after 6 weeks.

Top & Bottom: Total layers of arterial wall including implanted patch show neointimal formation, mild destruction of tissue patch and infiltrations of inflammatory cells in BP-PEO-SO_3 group preserved in aseptic saline(Masson's trichrome stain, ×100) and product group(Elastic stain, ×40).

Middle: There is marked calcific degeneration of tissue patch in BP-PEO-SO_3 group preserved in glutaraldehyde group (Masson's trichrome stain, ×400).

드기를 결합시켜 알데히드기를 감소시키고 또한 잔유 알데히드기를 생리식염수로 제거시켜 석회화를 방지하는지 알아본 결과, 생리식염수로 잔유 알데히드기를 제거한 군에서 칼슘 침착이 현저히 감소한 결과를 보여주었다. 이것은 석회화 반응이 여러 항석회화 처리법들에서 제시된 요인들뿐만 아니라 칼슘 침착이 일어나는 세포와 조직의 접촉 표면에서 추가적인 반응이 일어나는 것으로 생각되며[17,18], 조직내 잔유 알데히드기가 칼슘 침착에 중요한 작용을 한다고 할 수 있을 것이다.

또한 PEO사슬 분자구조는 칼슘 침착을 가속시키는 복합 칼슘이온체(complex calcium ion)로도 작용한다고 알려져 있는데[21], PEO-SO^3 연구에서는 오히려 칼슘 침착을 방지하는 효과를 보인다고 하였다[17,18]. 이것은 PEO사슬구조는 이식물질과 환경에 따라서 칼슘 침착을 향상시키거나 감소시키기도 하는데, 본 연구에서의 PEO-SO_3는 PEO는 술폰산기와 결합을 해서 위에서 언급한 여러 효과들의 상승작용에 의해 조직 세포와의 상호작용을 감소시켜 칼슘 침착을 방지하는 상이한 효과를 가짐으로써, PEO-SO_3가 석회화에 대한 안정성 및 저항성을 증가시키는 효과를 보이는 것으로 생각된다. 폴리우레탄에 PEO-SO_3와 PEO를 처리한 후 6개월 뒤 관찰한 조직 표면의 균열이 PEO만 처리한 군에서 광범위하게 관찰되었으나 PEO-SO_3로 처리한 군에서는 매우 적은 균열 상태를 보여[16], 칼슘 침착으로 인한 조직 파괴에 강한 안정성을 가지고 있는 것으로 보인다. 또한 PEO-SO_3로 처리한 조직첨포는 혈액 성분 및 혈구들과의 상호작용을 감소시키는 불활성 특성 및 열에 대한 높은 수축 저항성, collagenase에 의한 분해 저항성과 항혈전성을 가지고 있다고 알려져 있는데[22], 이 부분에 대한 연구는 더 필요하다. PEO-SO_3 처리를 한 소 심낭 조직의 석회화에 대한 저항성 실험 결과 조직 첨포를 이 방법으로 처리시 칼슘 침착 방지 효과를 증대시킬 수 있는 한 방법으로 생각되며 이에 대한 정확한 기전은 앞으로 연구가 더 진행되어야 할 것이다.

결 론

소 심낭 조직을 글루타르알데하이드로 고정 후 PEO-SO_3로 표면 처리하여 글루타르알데하이드에 보존한 군(GA군)과 무균 생리식염수에 보존한 군(Saline군), 그리고 이미 상품화되어 있는 조직 패취인 PERIGUARD®(Bio-vascular. Co. U.S.A.)(Product군)를 개의 경동맥과 좌우 대퇴동맥, 복막에 이식, 혈류에 노출시켜 조직 첨포의 칼슘 침착량을 비교하고 조직학적 변화를 관찰한 결과, PEO-SO_3로 처리하여 생리식염수에 보존한 군에서 다른 두 군에 비해 침착된 칼슘량이

가장 적었으며, 조직 검사에서는 GA군과 product군에서 조직의 석회화로 인한 변성 파괴가 심하였다. 결론적으로 소 심막 조직 첨포와 결합한 PEO-SO_3는 석회화를 감소시키고 또한 조직내 잔유 알데하이드기를 제거함으로써 항석회화 효과를 증가시킬 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

1. Levy RJ, Schoen FJ, Golomb G. *Bioprosthetic heart valve calcification: Clinical features, pathology, and prospects for prevention.* CRC Crit Rev Biocomp 1986;2:147-87.
2. Schoen FJ, Harasaki H, Kim K, et al. *Biomaterial-associated calcification: Pathology, mechanisms, and strategies for prevention.* J Biomed Mater Res 1988;22:11-36.
3. Schoen FJ. *Cardiac valve prostheses: Review of clinical status and contemporary biomaterials issues.* J Biomed Mater Res 1987;21:91-117.
4. Levy RJ, Schoen FJ, Sherman FS, et al. *Calcification of subcutaneously implanted type I collagen sponges: Effects of formaldehyde and glutaraldehyde pretreatments.* Am J Pathol 1986;122:71-82.
5. Levy RJ, Schoen FJ, Howard SL. *Mechanism of calcification of porcine bioprosthetic aortic valve cusp: Role of T-lymphocytes.* Am J Cardiol 1983; 52: 629-31.
6. Thubrikar MJ, Deck DJ, Aouad J. *Role of mechanical stress in calcification of aortic bioprosthetic valve.* J Thorac Cardivasc Surg 1986; 86: 115-25.
7. Levy RJ, Gundberg C, Scheinman R. *The identification of the vitamine K dependent bone protein, osteocalcin as one of the gamma-carboxyglutamic acid containing proteins present in calcified atherosclerotic plaque.* Atherosclerosis 1983; 46: 49-56.
8. Johnston TP, Bove EL, Bolling SF, et al. *Controlled release of 1-hydroxyethylidene diphosphonate: in vitro assessment and effects on bioprosthetic calcification in sheep tricuspid valve replacement.* Int J Pharmaceut 1989; 52: 139-48.
9. Webb CL, Nguyen NM, Schoen FJ, Levy RJ. *Calcification of allograft aortic wall in a subdermal model: pathophysiology and inhibition by Al3+ and aminodiphosphonate preincubations.* Am J Pathol 1992; 141: 487-96.
10. Hirsch D, Drader J, Thomas TJ, Schoen FJ, Levy JT, Levy RJ. *Inhibition of calcification of glutaraldehyde pretreated porcine aortic valve cusps with sodium dodecyl sulfate: preincubation and controlled release studies.* J Biomed Mater Res 1993;27:1477-84.
11. Chen W, Schoen FJ, Levy RJ. *Mechanism of efficacy of 2-amino oleic acid for inhibition of calcification of glutaraldehyde pretreated porcine bioprosthetic heart valves.* Ciculation 1994; 90:323-9.
12. Nimni MN, Cheung D, Strates B, et al. *Chemically modified collagen: a natural biomaterial for tissue replacement.* J Biomed Mater Res 1987;21:741-71.
13. Chanda J. *Anticalcification treatment of pericardial prostheses.* Biomaterials 1994;15:465-9.
14. Pereira CA, Lee JM, Haberer SA. *Effect of alternative crosslinking methods on the low strain rate viscoelastic properties of bovine pericardial bioprosthetic material.* J Biomed Mater Res 1990;24:345-361.
15. Harasaki H, Moritz A, Uchida N, et al. *LVAD mineralization of gamma carboxyglutamic acid containing proteins in normal and pathologically manetalized tissue.* Trans Am Soc Artif Intern Organs 1981; 27: 683-9.
16. Han DK, Jeong SY, Kim YH, et al. *Negative cilia concept for thromboresistance: synergistic effect of PEO and sulfonated groups grafted onto polyurethanes.* J Biomed Mater Res 1991; 25: 561-75.
17. Han DK, Park KD, Jeong SY, et al. *In vivo biostability and calcification-resistance of surface-modified PU-PEO-SO_3.* J Biomed Mater Res 1993; 27: 1063-73.
18. Han DK , Park KD, Jeong SY, et al. *In vivo canine studies of a sinkhole valve and vascular graft coated with biocompatible PU-PEO-SO_3.* ASAIO J 1993;39:537-41.
19. 김형묵, 백만종, 선 경 등. PEO-SO_3를 이용한 항석회화 조직첨포의 개발(I) - 잡견을 이용한 대동맥과 폐동맥 이식 실험연구 -. 대흉외지 1998;31:919-23.
20. Park KD, Yun JY, Han DK, Kim YH, Kim HM, Kim KT. *Chemical modification of implantable biological tissue for anti-calcification.* ASAIO J 1994; 40: M377-82.
21. Blitterswijk CA, Brink J, Leenders H, Hesseling SC, Bakker D. *Polyactive: a bone-bonding polymer effect of PEO/PBT proportion.* Trans Soc Biomater 1991;14:11-23.
22. Park KD, Lee WK, Yun JY, et al. *Novel anti-calcification treatment of biological tissues by grafting of suphonated poly(ethylene oxide).* Biomaterials 1997;18:47-51.

대흉외지
1998;31:1023-30

=국문초록=

배경: 인체내 이식된 생체조직들은 석회화 변성으로 인해 그 내구성이 단축된다. 이러한 조직들을 이식하기전에 글루타르알데하이드(GA)로 고정후 sulphonated polyethyleneoxide(PEO-SO_3)를 결합시키고 또한 조직내의 잔유 알데히드기를 제거함으로써 석회화에 대한 내구성을 향상시킬 수 있다. ***대상과 방법:*** PEO-SO_3 처리법과 잔유 알데히드기 제거의 석회화 방지 효과를 알아보기 위하여 GA 고정 후 PEO-SO_3로 처리한 소 심낭 첨포를 잔유 알데히드기 제거를 위해 무균 생리식염수에 보존한 saline 군과 0.65% GA 용액에 보존한 GA군, 그리고 이미 상품화되어 임상에서 사용되고 있는 product군을 8마리 개의 경동맥과 대퇴동맥 및 복막에 이식하여 6주 후 적출하여 칼슘량 및 병리조직 소견에 대해 알아보았다. ***결과:*** 경동맥에서 채취한 조직첨포의 칼슘량은 saline군에서 GA군과 product군에 비해 유의하게 적었다(saline; 2.89 $\pm$0.31 vs. GA; 6.14$\pm$1.08 vs. product; 22.82$\pm$5.00 mg/g; $p< .05$). 대퇴동맥과 복막 이식 첨포에서의 칼슘량 또한 saline군에서 다른 두 군에 비해 가장 적었으나 통계적인 유의성은 없었다. 한편 병리조직 검사에서는 GA군에서 다른 두 군에 비해 조직의 석회화로 인한 변성 파괴가 심하였다. ***결론:*** 본 연구에서 소 심낭 조직 첨포와 결합한 PEO-SO_3는 석회화를 감소시키고 또한 조직내 잔유 알데히드기를 생리식염수로 세척하여 제거함으로써 항석회화 효과를 증가시킬 수 있었다. 결론적으로 PEO-SO_3로 처리한 소 심낭 조직은 석회화 변성에 대한 강한 저항성을 보임으로써 심혈관 첨포나 인공 조직 판막 개발에 도움를 줄 수 있을 것이다.

중심단어: 1. 석회화
2. 심낭 첨포