

인터벤션 시술을 위한 생분해성 고분자막의 개발: 예비연구

- Development of Biodegradable Polymeric Membrane for Interventional Procedure: Preliminary Study -

서울과학기술대학교 신소재공학과, 강원대학교 방사선학과¹⁾·충북대학교 신소재공학과²⁾·신우베이스원³⁾·강동경희대학교병원 영상의학과⁴⁾

방중완·현창용·김태형¹⁾·소운영¹⁾·김진태²⁾·김상섭³⁾·정희동⁴⁾·허영철⁴⁾

— 국문초록 —

인터벤션 시술을 위한 생분해성 고분자 재료의 임상적용 가능성을 평가하기 위한 예비실험을 진행하고자 한다. 생분해성 고분자막은 분말상태의 히알루론산을 수산화나트륨 용액에 가열교반기를 이용하여 수용액으로 제조하였다. 제조된 수용체는 조영제를 3가지(10, 20, 30 vol%)로 다르게 하여 첨가하고, 12시간 동안 100-200rpm의 속도로 실온에서 수직교반을 시행하였다. -80℃에서 24시간 동안 동결건조 한 후, 동결건조된 시료는 막으로 성형하기 위해 유압프레스로 가압하여 제조하였다. 조영제의 함량을 달리하여 제작된 막은 주사전자 현미경을 이용한 육안 검사와 방사선 투과도 시험을 시행하였으며, 육안 검사상 조영제의 함량이 많을수록 표면이 거칠어지는 경향을 보였으며, 방사선투과도 시험은 방사선 투시, 단순촬영, 연속촬영의 조건에서 모두 유사한 방사선투과도를 보였다. 결론적으로 본 예비연구에서 히알루론산으로 제조된 생분해성 막은 임상에서의 사용가능성을 가지고 있는 재료임을 확인할 수 있었다.

중심 단어: 인터벤션 시술, 생분해성 고분자 재료, 히알루론산

I. 서 론

인터벤션 시술은 체내 관장 장기의 협착이나 누출이 발생하였을 때 이를 치료하기 위하여 영상의학과나 담당 임상과에서 시행하는 비수술적 치료법의 하나이다. 주로 비혈관계보다 혈관계의 시술이 이루어지고 있으며, 침습적인 수술적 치료법을 대신하거나 수술을 거부하는 환자를 대상으로 시행된다^{1,2)}. 출혈 환자나 동맥류(aneurysm) 환

자를 대상으로 혈관 색전술이 시행되고 있으며, 수술 전 안전성과 성공률을 높이기 위해 문맥 혈류를 인위적으로 차단하는 문맥색전술(portal vein embolization)과 간암의 보존적 집중 치료를 위한 방법으로 다양한 질환에 시행되고 있다³⁾.

혈관 색전술은 폐색물질이 체내에서 차폐체(embolic materials)의 역할을 하는 기간에 따라 영구 색전물질과 단기 색전물질로 구분할 수 있으며, 영구 색전물질은 주로 금속계통의 재료가 사용되고, 단기 색전물질은 치료 목적에 따라 치료부위에서 일정 기간 동안 차폐 역할을 수행한 후 생분해되는 특징을 가지고 있다. 각각의 물질에 따라 환자 적응증에 차이가 있으며, 효과적이고 다양한 색전술을 시행하기 새로운 폐색물질을 개발하여 다양한 질환에 적용하기 위한 연구가 진행되고 있다⁴⁻⁶⁾.

본 연구팀은 새로운 혈관 폐색물질로 생분해성 물질인 히알루론산 (HA, hyaluronic acid)을 이용한 고분자막을

* 접수일(2014년 1월 29일), 1차 심사일(2014년 2월 10일), 확정일(2014년 2월 25일)

* 감사의 글: 본 연구는 강원대학교 2013학년도 교수 연구력 증진사업 연구비로 이루어졌습니다.

교신저자: 김태형, (240-970) 강원도 삼척시 도계읍 황조3리 강원대학교 보건과학대학 방사선학과
Tel : 033-540-3380, Fax : 033-540-3389
E-mail : thkim@kangwon.ac.kr

제작하여 임상 적용의 가능성을 판단하기 위한 예비 연구를 진행하여 이를 분석하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 고분자 막 제조

분말상태의 히알루론산(Shiseido Co., Japan)을 0.05mol/L 농도의 수산화나트륨(NaOH) 용액에 실온에서 가열교반기(MST Digital, IKA, Germany)를 이용하여 200-400rpm의 속도로 용해하여 2.0wt%의 수용액을 제조한 후 pH 11-12로 조정하였다. 제조된 히알루론산 수용액에 혈관조영술시 사용되는 조영제(Ultravist Injection 300, Bayer Healthcare)를 10, 20, 30 vol%로 첨가하여 12시간 동안 100-200rpm의 속도로 실온에서 수직교반(BESTIR, Poonglim Tech, Korea)을 시행하였다.

교반혼합이 모두 종료된 후 20 mm 직경의 테프론 몰드에 2 mL씩 나누어 분주하고, -40°C 조건으로 4시간 냉동한 후, -80°C에서 24시간 동안 동결건조(FD8508, Ilshinbiobase, Korea)를 시행하였다. 동결건조된 시료를 막으로 성형하기 위해 유압프레스(38500, Carver, USA)로 5ton의 압력으로 10분간 유지하여 가압하여 고분자 막을 제조하였다.

가교제는 divinyl sulfone[DVS] ($\geq 97\%$, Aldrich, USA)을 사용하였으며 가교액을 제조하기 위해 용매인 2-methyl-1-propanol(99%, Junsei, Japan)에 0.4vol%로 첨가하여 2시간 교반을 시행하였다. 가압된 막을 준비된 가교액에 침지 후 실온에서 24시간 200rpm으로 교반하며 가교를 진행하였으며 가교 후 필터링 하여 가교액을 흘려버리고 남은 HA막은 30분간 2회를 에탄올(99%, Samchun, Korea)로 세척한 후 완충용액(PBS, Phosphate Buffered Saline)에서 30분씩 2회를 각 회별로 신선한 PBS로 교체해주며 세척하였고, 필터링 하여 세척제를 모두 제거하고 이후 냉동을 거쳐 동결건조를 첫회와 동일한 조건으로 시행하여 히알루론산(HA) 막을 제조하였다(Fig. 1). 실험에 사용된 HA 막은 두께 500-800 μm 이며, 직경 20mm로 하였다.

2. 재료의 표면 분석 및 방사선 불투과도 분석

제조된 히알루론산막은 무작위 선택하여 주사전자현미경(SEM, Scanning Electron Microscope, S-3000H, Hitachi, Japan)을 사용하며 고분자 막의 표면 및 단면

을 관찰하여 육안적 분석을 시행하였다. 임상에서 추적가능성을 판단하기 위하여 방사선불투과도 시험을 실시하였으며, 방사선 투시촬영장치(allular X-per 20/10 plat panel detector floor type, Philips, Netherland)를 이용하여 방사선 투시 환경을 임상 검사와 유사하게 조정하고, 방사선 투시(45 kVp, 3 mAs), 단순촬영(53 kVp, 1 mAs), 연속촬영(2 frame/sec, 71 kVp, 1 mAs)의 조건으로 각각 10회 측정하여 조영제를 첨가하지 않은 대조군과 비교하였다. 결과 값은 방사선 투시촬영장치에서 표현되는 투과도 히스토그램 값을 조사하고, 각 부분의 투과도 평균값과 비교하여 이를 역산하여 불투과도를 계산하여 분석하였다(Fig. 2).

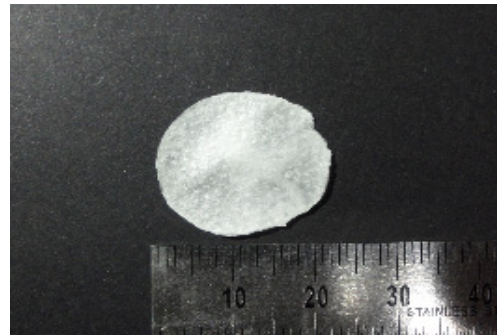


Figure 1. Photogram of hyaluronic acid membrane mixed contrast medium



Figure 2. Radio-opacity test of hyaluronic acid membranes in fluoroscopic type

III. 결과

1. 재료의 표면 분석

주사전자 현미경 관찰 결과, 표면은 가압력에 의해 특이한 유의성 없이 HA막이 가압되어 늘려진 상태로 관찰

되었으며(Fig. 3), 이는 Figure 3에서 관찰되는 바와 같이 단면에서 얇은 막이 수십 개의 층으로 겹쳐져 미세한 막이 상호 네트워크를 이루어 스폰지 형태로 다공성 지지체 형태로 이루어져 있으며 이는 약물담지에 효과적인 담체의 대표적인 구조로 이루어진 것으로 관찰되었다. 단면의 형태를 보면 방사선 불투과성을 부여하기 위해 첨가한 조영제를 함유한 HA막에서 많은 돌기부가 형성되어 각층

을 연결하고 있었으며, 차폐막으로 성형하기 위해 동일한 크기의 성형몰드에 동일한 주입량, 기압력을 제공하였으나 조영제의 함량이 높을수록 이들 돌기부에 의해 두께가 상승함을 볼 수 있었다(Fig. 4).

2. 방사선 불투과도 분석

생분해성 고분자막의 방사선 불투과도는 Table 1에 정

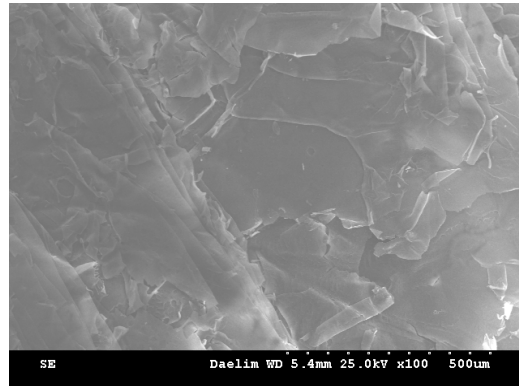


Figure 3. Scanning Electron Microscopic image showing the surface of hyaluronic acid membrane

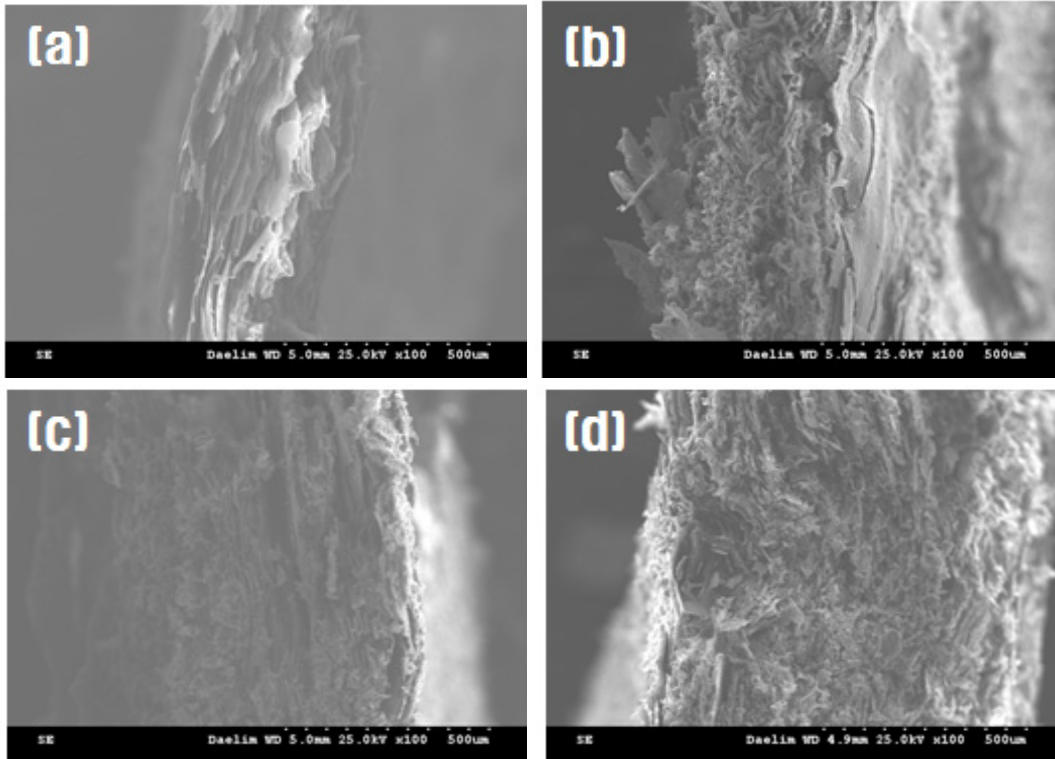


Figure 4. Scanning Electron Microscopic image showing the cross section of hyaluronic acid membranes: (A) no contrast agent, (b) hyaluronic acid membranes mixed 10vol% contrast medium, (c) hyaluronic acid membranes mixed 20vol% contrast medium, (d) hyaluronic acid membranes mixed 30vol% contrast medium

Table 1. Radio-opacity test in hyaluronic acid membranes

Type of Radiogram	Groups(average±standard deviation)			
	Control	HA + 10 %vol CM	HA + 20 %vol CM	HA + 30 %vol CM
Fluoroscopy	288.2±20.82	384.5±15.69	443.5±10.03	493.7±14.48
Single Exposure	263.9±12.78	364.3±27.39	378.2±23.81	421.1±24.78
Continuously Exposure (2frame/sec)	287.2±20.18	335.3±16.29	350.3±13.15	372.4±13.13

Note, HA= hyaluronic acid; CM= contrast medium

리하였으며, 방사선 투시상에서 불투과도는 대조군에서 평균 288.2 ± 20.82 , HA + 10% 조영제 혼합군에서 384.5 ± 15.69 , HA + 20% 조영제 혼합군에서 443.5 ± 10.03 , HA + 30% 조영제 혼합군에서 493.7 ± 14.48 이었다. 단순촬영의 경우는 각 군별로 263.9 ± 12.78 , 364.3 ± 27.39 , 378.2 ± 23.81 , 421.1 ± 24.78 이었다. 연속촬영의 경우는 각 군별로 287.2 ± 20.18 , 335.3 ± 16.29 , 350.3 ± 13.15 , 372.4 ± 13.13 이었다. 대조군과 비교하여 조영제가 혼합된 실험군에서 방사선불투과도가 증가하였다.

IV. 고찰 및 결론

생분해성 고분자는 담체 및 지지체로 많이 사용되어 왔으며 그 적용으로는 유착 방지 필름, 골과 연조직간의 차폐막, 인터벤션 시술에 사용되는 스텐트의 피막 등에 사용되어 왔으며⁷⁻⁹⁾, 최근에는 합성 고분자보다는 생체 적합성이 우수한 천연고분자인 히알루론산, 콜라겐, 젤라틴, 키토산 등의 연구가 활발히 진행되어 왔다¹⁰⁻¹⁵⁾. 본 연구에 사용된 생분해성 고분자재료중 하나인 히알루론산은 N-acetyl-D-glucosamine과 D-glucuronic acid가 교대로 결합되어 선형으로 연결된 Glycosaminoglycan의 천연고분자로서 세포외기질의 주성분으로 세포간 분자의 3차원적인 가교역할을 하고 인체의 피부와 진피에 분포되어 있는 물질이다. 또한 중간 특이성을 갖지 않으므로 면역반응에 대한 잠재력이 매우 약한 생체적합성 물질로서 임상에서 다양한 분야에서 사용되고 있다. 그러나, 고분자 재료는 방사선 투시상 추적이 곤란하여 인체 삽입 후 위치를 파악하거나 분해되는 과정을 추적하는데 어려움이 있어 인터벤션 시술의 사용이 제한적 이었다. 본 연구에서는 방사선 추적이 용이하도록 조영제가 혼합된 필름 막

을 제조하였으며, 원재료의 육안적 변형과 기능의 제한 없이 조영제의 혼합이 가능함을 확인할 수 있었다. 또한, 임상에서 시행되고 있는 다양한 의료영상 검사 환경에서 식별 가능한 방사선불투과도를 표현할 수 있음을 확인할 수 있어 동물실험이나 임상시험 전의 그 가능성을 평가하는 예비연구 결과를 얻을 수 있었다.

주사전자현미경의 실험결과에서 고분자막의 표면이 특이한 유의성 없이 히알루론산막이 균일하게 가압되어 늘려진 상태로 관찰되어 재료의 안정성을 확인할 수 있었으며, 방사선 불투과도 향상을 위해 혼합한 조영제 함유 고분자막은 그 양을 증가시킬수록 표면의 돌기부가 많이 형성됨을 관찰할 수 있었다. 이 반응은 재료 표면조도를 향상시킴으로써 체내 혈액과 반응하였을 때 혈류 흐름을 저해하여 혈소판과 피브린의 형성을 자극하고 혈액응고 기전을 촉진시킬 수 있을 것으로 예상되며¹⁶⁾, 이는 혈관 폐색을 위한 색전술의 재료로 유리하게 작용할 것으로 예상된다.

본 연구는 몇 가지 제한점과 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다. 첫째, 본 연구에 사용된 고분자막은 예비 연구용으로 사용된 피막의 형상으로 제작되어 동물실험이나 체내 평가를 위해선 구형이나 다면체 형태의 시험재료의 제작이 필요할 것으로 판단된다. 일반적으로 임상에서 사용되는 색전물질은 구형이나 젤폼 스폰지와 같이 육면체의 형태가 사용되고 있으며, 이를 해결하기 위한 새로운 형상을 가진 시험 재료의 개발이 필요할 것으로 판단된다. 또한, 재료의 물성을 파악하기 위한 추가 연구가 필요할 것으로 판단된다. 둘째, 체내 조직 변화를 직접 확인할 수 있는 혈액반응 실험과 동물실험이 필요할 것으로 판단된다. 히알루론산이 하이드로겔 형태로 연조직생 및 결손골 수복을 위해 이식되거나 외과적 수술, 또는 결손부와의 유착방지를 위해 인접조직 격리 목적으로 사용되고 있으나, 실제 인터벤션 시술에 적용할 수 있는 객

관적인 분석과 결과가 요구되어 혈액 반응 실험이나 동물 실험이 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로 본 예비연구를 통하여 인터벤션 기술을 위해 제작된 생분해성 히알루론산 고분자막의 육안평가와 방사선불투과도 시험을 통하여 혈관 색전술시 유용한 색전물질로 사용할 수 있는 가능성을 확인할 수 있었으며, 예비 연구에서 도출된 제한점을 해결하기 위한 추가연구가 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Castañeda-Zuñiga WR, Ferral H, Haraldur Bjarnason, Qian Z: Synopsis of Castañeda's interventional radiology, Lippincott Williams & Wilkins, 77-116, 2001
2. Palmaz J.C., Encarnacion C.E.: Chapter 16. Intraluminal stents: general principles., Society of Cardiovascular & Interventional Radiology, 176-183, 1994
3. Korea Society of Cardio-vascular Interventional Technology: Interventional Radiology, Koonja publisher, 127-133, 143-145, 2011
4. Park SS, Yoon HK, Lee NS, et. al: Portal vein embolization with use of a new liquid embolic material: an experimental study, JVIR, 339-345, 1999
5. Nakanishi K, Osuga K, Hori S, et al.: Transarterial embolization (TAE) of sacral giant cell Tumor (GCT) using spherical permanent embolic material superabsorbant polymer microsphere (SAP-MS), SpringerPlus, 2:666, 2013
6. Kurdi M, Baeesa S, Bin-Mahfoodh M, Khalil K: Onyx Embolization of Ruptured Intracranial Aneurysm Associated with Behçet's Disease, Case Reports in Vascular Medicine, 2013, Article ID 797045, 7, 2013.
7. Kang HS, Kim JS, Kim BS et al: Drug release characteristics of biodegradable polymer for stent coating, Korean J. of Biotechnology and bioengineering, 18, 109-110, 2003
8. Pan CJ, Tang J, Weng Y et al.: Preparation, characterization and anticoagulation of curcumin-eluting controlled biodegradable coating stents, J Control Release, 116, 42-49, 2006
9. Lee YW, Chu By, Lee YG, Kim NH, Kim JH, Kim KI, Kwon SW : Efficacy and safety of the electrospun nanofibrous adhesion barrier for laparoscopic surgery in a rabbit model, J. Korean Surg Soc. 76(2), 73-80, 2009
10. Kim I, Seo S, Moon H, Yoo M, et al.: Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications, Biotechnol. Advan., (26) 1-21, 2008
11. Einerson NJ, Stevens KR, Kao WJ: Synthesis and physiochemical analysis of gelatin-based hydrogels for drug carrier matrices, Biomater., (24) 509-523, 2002
12. Dong ES, Kim SY, Chun T et al.: Collagen scaffolds derived from a marine source and their biocompatibility", Biomater., (27) 2951-2961, 2006
13. Kim JT, Lee DY, Choi JH: Implanting test of re-hydrated hydrogels by hyaluronic acid microbeads, Biomaterials Research, 15(3), 125-128, 2011
14. Kim JT, Lee DY, Jang JW, Kim TH and Jang YW : Characterization of Cross Linked Hyaluronic Acid Microbeads by Divinyl Sulfone, Journal of Biomedical Engineering Research 34: 117-122, 2013
15. Kim JT, Lee DY, Oh YS, Bang JW, Hyun CY, Kim TH, and Choi JH : Swelling Properties for Cross-linking Degree of Hyaluronic Acid Hydrogels, Biomaterials Research 17(1) : 37-40, 2013
16. Ko JM, Kook JY, Kim SJ, et al. : Understanding the Human Body, Jungmunkak, 207-209, 2004

•Abstract

Development of Biodegradable Polymeric Membrane for Interventional Procedure: Preliminary Study

Jung-Wan Bang · Chang-Yong Hyun · Tae-Hyung Kim¹⁾ · Woon-Young So¹⁾ · Jin-Tae Kim²⁾ · Sang-Sub Kim³⁾ · Hee Dong Jung⁴⁾ · Yeong Cheol Heo⁴⁾

Department of Advanced Material Engineering, Seoul National University Science And Technology

¹⁾*Department of Radiological Science, Kangwon National University*

²⁾*Department of Advanced Material Engineering, Chungbuk National University*

³⁾*Shinwoo Base One*

⁴⁾*Department of Radiology, Kang-Dong Kyung-Hee University Medical Center*

This study was to evaluate clinical feasibility of biodegradable polymeric membrane for interventional procedure in preliminary study. Bio-degradable polymeric membrane was produced into a solution by mixing hyaluronic acid powder with NaOH solution in a heating mantle. Three different concentrations of contrast media (10, 20, and 30 vol%) were added to the produced soluble powder, and vertical agitation was performed for 12 hours at a speed of 100 to 200 rpm at a room temperature. It was freeze dried for 24 hours at a temperature 80°C. Pressure on the freeze dried sample was exerted by a hydraulic press in order to form the freeze dried sample into a membrane. The membrane produced with varying contrast medium concentration was visually examined by a scanning electron microscope and radiographically inspected. Under the visual examination, the higher the concentration of contrast medium, the rougher the surface. Radiographic transparency was similar under all conditions of fluoroscopic radiography, simple radiography, and serial radiography. In conclusion, this preliminary study verified that bio-degradable membrane produced with hyaluronic acid was a material with clinical usability.

Key Words : interventional procedure, biodegradable polymeric membrane, hyaluronic acid