

Farnesyl transferase inhibitor의 혈관  
평활근 세포증식 및 흰쥐 경동맥 손상  
모델에서 신내막 증식에 미치는 영향

연세대학교 대학원

의 학 과

유 병 수

Farnesyl transferase inhibitor의 혈관  
평활근 세포증식 및 흰쥐 경동맥 손상  
모델에서 신내막 증식에 미치는 영향

지도 윤 정 한 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2002년 6월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

유 병 수

유병수의 석사 학위논문으로 인준함

심사위원 \_\_\_\_\_ 인

심사위원 \_\_\_\_\_ 인

심사위원 \_\_\_\_\_ 인

연세대학교 대학원

2002년 6월 일

## 감사의 글

본 논문이 완성되기까지 부족한 저를 세심하게 지도해 주셔서 이 작업은 열매를 맺게 해주신 윤정한 교수님, 든든한 언덕이 되어주신 최경훈 교수님, 논문의 마무리까지 많은 지도와 관심을 베풀어주신 박주영 교수님께 진심으로 감사 드립니다. 또한, 연구의 진행에 있어 훌륭한 조력자가 되어 준 순환기내과 가족들에게 감사와 애정을 포함합니다.

끝으로 이 모든 과정과 함께 한 아버님, 어머님, 장인, 장모님과 집안 일 뿐 아니라 실험까지 도와준 자랑스런 아내와 사랑스런 아이들과 함께 한 이 기쁨을 나누고 싶습니다.

2002년 6월

저자 씬

# 차 례

그림차례 .....	iv
표차례 .....	v
국문요약 .....	vi
1. 서론 .....	1
2. 재료 및 방법 .....	3
2.1. 실험 약물 .....	3
2.2. 세포 배양 및 세포 증식의 분석 .....	3
2.2.1. 세포 배양 .....	3
2.2.2. 세포 증식정도 측정 .....	3
2.3. 흰쥐 경동맥 손상 모델에서 신내막 증식에 대한 FTI 효과 .....	5
2.3.1. 실험 동물 및 흰쥐 경동맥의 풍선 손상방법 .....	5
2.3.2. 실험 군 및 약제 투여방법 .....	6
2.3.3. 실험 동물의 희생, 관류-고정 및 표본제작 .....	6
2.3.4. 조직 형태학적 분석 .....	7
2.3.5. PCNA 면역 조직학적 분석 .....	7
2.3.6. 자료 분석 및 통계처리 .....	7
3. 결과 .....	8
3.1. 혈관 평활근 세포의 증식에 대한 FTI의 효과 .....	8
3.2. 흰쥐 경동맥 손상 모델에서 신내막 증식에 대한 FTI 효과 .....	11
3.2.1. 대상 및 결과 .....	11
3.2.2. 조직 형태학적 분석 결과 .....	12
3.2.3. PCNA 면역 조직학적 분석 결과 .....	13

4. 고찰 .....	14
4.1. 세포내 ras-protein과 farnesyl transferase inhibitor .....	14
4.2. 실험실내에서 FTI의 혈관 평활근 세포 증식 억제에 대한 효과 .....	15
4.3. 흰쥐 경동맥 손상 모델에서 신내막 증식에 대한 FTI 효과 .....	16
5. 결 론 .....	18
참고문헌 .....	20
Abstract .....	23

## 그림 차례

Fig. 1. Effect of FBS or PDGF on the cellular proliferation of rat vascular smooth muscle cells. ....	9
Fig. 2. Inhibitory effects of FTI on rat vascular smooth muscle cell proliferation with or without stimulation .....	10
Fig. 3. A representative specimen of the each study group .....	12

## 표 차 례

Table 1. Comparison of body weight, intimal area, luminal area, medial area, IELA, EELA and ratio of intimal to medial area among the each group .....	11
Table 2. Comparison of PCNA (+) cell count and labeling index among control, low-dose, mid-dose and high-dose group .....	13

## 국문 요약

# Farnesyl transferase inhibitor의 혈관 평활근 세포증식 및 흰쥐 경동맥 손상 모델에서 신내막 증식에 미치는 영향

혈관의 내피 손상후의 신내막 조직에서의 평활근 증식은 관상동맥 풍선 성형술 후에 따르는 재협착의 원인으로 알려져 있다. 평활근 세포를 포함함 세포의 증식 및 활성화에는 세포내에서 활성화된 ras-protein이 외부의 자극을 세포내로 신호가 전달되는 매개 역할을 하여 세포의 활성화가 촉진된다고 알려지고 있고 ras-protein의 활성화를 막는 것이 세포 증식 및 활성화를 억제에 중요하다. 본 연구는 실험실에서 개발된 경구용 farnesyl transferase inhibitor (FTI) 를 관상동맥 풍선 성형술 후 재협착 치료제로의 사용 가능성을 알아보하고자 혈관 평활근 세포의 증식 및 동물 실험에서 신내막 증식에 대한 효과를 검증하고자 하였다.

실험실 내에서 흰쥐의 혈관 평활근의 세포를 배양하여 FTI를 약제 농도에 따라 첨가하여 세포 증식에 관한 FTI의 효과를 분석하였다. 생후 10주된 흰쥐의 경동맥 손상 모델을 이용하여 좌측 경동맥에 2Fr의 색전 제거술용 풍선도자를 이용하여 내피손상을 유발한 후 심혈 군을 대조 군, 저 용량 (10mg/kg, bid) 약제 투여 군, 중간 용량 (50mg/kg, bid) 및 고 용량 (100mg/kg, bid) 약제 투여 군으로 나누어 14일간 1일 2회 경구 투여하였고, 손상 후 2주째 희생시켜 경동맥 표본을 제작 분석 하였으며 또한, 면역 조직학적 분석을 위해 proliferating cell nuclear antigen (PCNA)을 이용하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. platelet derived growth factor (PDGF, 5ng/ml) 자극 혹은 fetal bovine serum (FBS) 첨가 하에 혈관 평활근 세포 배양시 FTI는 농도가 증가할수록 세포 증식 정도가 대조 군에 비하여 유의하게 점진적으로 감소시켰다 ( $p < 0.05$ ).
2. 내막면적은 대조 군이  $0.35 \pm 0.04 \text{mm}^2$ , 저용량 약제 투여 군이  $0.23 \pm 0.04 \text{mm}^2$ , 중간 용량 약제 투여 군이  $0.19 \pm 0.04 \text{mm}^2$ 로 중간용량 약제 투여 군이 대조 군에 비해 유의하게 작은 값을 보였으나( $p < 0.05$ ), 저용량 약제 투여 군과는 유의한 차이가 없었다. 내강 면적은 대조 군이  $0.14 \pm 0.02 \text{mm}^2$ , 저용량 약제 투여 군이  $0.11 \pm 0.03 \text{mm}^2$ , 중간 용량 약제 투여 군이  $0.21 \pm 0.02 \text{mm}^2$ 로 중간용량 약제 투여 군이 저용량 약제 투여 군과 대조 군에 비해 유의하게 큰 값을 보였다.( $p, 0.05$ ). 신내막 증식에 대한 약제의 효과에서 FTI의 용량이 증가할수록 신내막 면적이 감소되었으나 저용량 군에서는 대조 군에 비하여 통계학적인 유의성은 관찰되지 않았고, 중간 용량 투여 군에서는 대조 군에 비하여 통계학적으로 유의한 신내막 억제 효과가 있었다 ( $p < 0.05$ ).
3. PCNA 면역 조직학적 분석의 결과 표지지수 (labelling index)는 대조 군  $71 \pm 9$ , 저용량 약제 투여 군  $73 \pm 9$ , 중간용량 약제 투여 군  $54 \pm 14$ , 고용량 약제 투여군  $53 \pm 9$ 로 중간용량 약제 투여 군과 고용량 약제 투여 군에서 대조 군과 저용량 약제 투여 군에 비하여 유의하게 낮았다 ( $p < 0.05$ ).

이상의 결과로 첫째, FTI는 흰쥐의 혈관 평활근 세포의 증식을 FTI가 농도가 증가함에 따라 세포의 증식을 유의하게 억제하였고 둘째, 흰쥐의 경동맥 손상 모델에서 약제의 용량이 증가할수록 신내막 면적을 유의하게 감소시켰다. 따라서 FTI가 관동맥 성형술 후 재협착 치료의 효과적인 약물로서 적용 가능성이 있다 하겠다.

---

핵심되는 말 : farnesyl transferase inhibitor, 신내막, 평활근 세포

# Farnesyl transferase inhibitor의 혈관 평활근 세포증식 및 흰쥐 경동맥 손상 모델에서 신내막 증식에 미치는 영향

<지도 윤 정 한 교수>

연세대학교 대학원 의학과

유 병 수

## 1. 서 론

관동맥 협착 병변에서 경피적 풍선 성형술 (percutaneous transcutaneous coronaryangioplasty; PTCA)의 효과가 입증되고 시술 관련 기술이 발전하였으나 재협착은 PTCA 시술 환자의 10-50%에 이르러 재시술을 필요로 하는 등 환자에게 고통과 위험을 가중시키고 의료비의 상승을 유발하는 요인이 되고 있다.<sup>1-3)</sup> PTCA 후 재협착의 기전으로 신내막 증식 및 수축성 혈관 개형 (constrictive vascular remodeling) 이 중요한 재협착의 기전으로 알려져 있다. 재협착 기전 중 신내막 증식은 혈관 평활근 세포가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 재협착을 막는 근본적인 치료로서 새로운 약제나 기구를 이용한 많은 활발한 연구가 진행 중이다.<sup>4-6)</sup>

그중 ras-protein은 세포주기를 조절하는 것으로 알려져 있으며 최근 ras-protein

의 활성화에 관여하는 farnesyl transferase를 억제하는 경구용 약제가 개발되었다.<sup>7-12)</sup> 이들 약제의 ras-protein에 대한 작용이 혈관 평활근 세포에도 알려지고 최근 혈관내막증식을 치료하려는 시도가 보고되어 치료제로서의 효과가 기대된다.<sup>13-15)</sup>

이에 본 연구는 최근 개발된 경구용 farnesyl transferase inhibitor (FTI)를 관상동맥 풍선 성형술 후 재협착 치료제로의 사용 가능성을 알아보고자 실험실내에서 혈관 평활근 세포의 증식 및 생체 내에서 풍선 손상후 신내막 증식에 대한 억제 효과를 검증하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 실험 약물

본 실험에서 경구 투여가 가능한 LB42908a (Lot No: FT08a-02R1P1, MW 604, LG Chemical, Taejeon, Korea)를 사용하였다.

### 2.2 세포 배양 및 세포 증식의 분석

#### 2.2.1 세포 배양

혈관 평활근 세포는 흰쥐 (*Rattus norvegicus*)의 흉부 대동맥에서 분리한 세포를 (CRL-1444, American Type Culture Collection, Manassas, VA) 실험에 사용하였다. 이들 세포는 현미경으로 관찰하여 혈관 평활근 세포의 특징적 모양 (hill-and-valley)을 확인하였고 이들 세포들은 10% fetal calf serum (Sigma, St. Lois, Missouri) 이 포함된 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium, Life Technologies, Grand Island, NY) 배지 (37°C, 5% CO<sub>2</sub>) 에서 배양하였다.

#### 2.2.2 세포 증식정도 측정

FTI에 의한 혈관 평활근 세포의 증식의 정도를 알기 위해 MTT assay [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT, Sigma)]를 시행하였다. MTT test는 Modified fluorometric assay로 MD 활성도 (Determinant of cellular mitochondrial dehydronase activity)를 측정하여 생존세포의 양을 측정하는 방법으로 여러 가지 농도의 FTI가 혈관 평활근 세포의 증식에 미치는 영향을 알아보려고 하였다. 실험에 사용한 혈관 평활근 세포는 배양된 세포를 phosphate buffered saline (PBS)로 씻고 trypsin으로 처리하여 떼어낸 후 96-well microtiter plate에 배양하였으며, 각 well에는 200 $\mu$ l의 배지와 함께 약  $3-4 \times 10^4$  개의 세포를 배양하였다. 혈청을 넣지 않고 platelet derived growth factor (PDGF)가 없는 배양액에서 혈관 평활근 세포를 배양한 후 측정된 MD 활성도를

대조 군으로 하여 대조 군과의 비율 (% of control)로 세포 증식의 정도를 나타내었다. FTI의 효과를 검증하기 위해 모든 시료는 PBS로 희석하였고 10% fetal bovine serum (FBS, Life Technologies)으로 세포 증식을 자극 한 군, PDGF-BB (Sigma, 5ng/ml)로 자극한 군 그리고 PDGF나 FBS의 첨가 없이 억제만 투여 한 군으로 나누었고 각기 FTI를 1nM, 10nM, 100nM, 1 $\mu$ M, 10 $\mu$ M, 100 $\mu$ M 농도까지 증가시키면서 배양하였다. 각 well의 배지는 24시간마다 교환하였고 각 농도별로 6개의 well을 배정하였다. FTI를 투여한 후부터 24시간마다 배지를 교환하면서 72시간 배양하였고 MTT assay를 시행하였다. MTT assay는 well에 2.5mg/ml MTT용액 10 $\mu$ l씩을 가하였으며, 37 $^{\circ}$ C에서 4시간 동안 배양하였다. 이 때 음성 대조 군으로 배지만을 가한 well을 확보하였다. 4시간 경과후 각 well에서 약 150 $\mu$ l 정도의 상층액을 제거한 다음, 0.04M HCl 100 $\mu$ l을 각 well에 가하여 형성된 formazan 생성물을 용해시켜 균질 용액을 채취하여 micro-ELISA reader를 이용하여 595nm에서 광학도를 측정하였다. 각 농도에서의 세포 증식 정도는, 약을 가하지 않은 대조 군과의 비율 (% of control)로 표시하였다.

## 2.3 흰쥐 경동맥 손상 모델에서 신내막 증식에 대한 FTI 효과

### 2.3.1 실험 동물(animal model) 및 흰쥐 경동맥의 풍선 손상 방법

본 실험에서 실험대상 동물로서 체중이 300gm정도이고 생후 8-10주된 Sprague-Dawley 흰쥐 수컷을 사용하였다.

마취는 Ketamine 및 lidocaine 혼합액을 복강 내 주사하여 마취를 유지하였다. 목의 정중부로 절개를 한 후 좌측 총경동맥과 내경동맥, 외경동맥이 드러나도록 한 후 총경동맥의 주변을 혈관의 견인 및 손상이 없도록 박리 하여 혈관의 외막이 깨끗하게 노출되도록 하였다. 외경동맥의 원위부를 완전 결찰하고 내경동맥의 근위부를 임시 결찰한 후 총경동맥의 원위부에 검자를 설치하였다. 외경동맥 결찰부의 근위부에 미세 절개를 가한 후 2Fr의 Fogarty 동맥 색전제거술용 도자 (Baxter Edwards Health Corp., Irvine, CA)를 삽관하였다. 도자의 말단부가 총경동맥을 지나서 흉부 대동맥에 이르도록 한 후 생리식염수로 풍선을 부풀려 견인하면서 대동맥궁에서 총경동맥이 분지 하는 기시부에 걸리도록 한 뒤 풍선을 감압하여 총경동맥 안으로 미끄러져 들어오게 하면서 다시 풍선을 부풀려 일정한 저항이 느껴질 정도로 풍선의 팽창을 유지하면서 견인하였다. 같은 과정을 3회 반복하여 혈관 내피세포의 박리를 유발시켰다. 3회의 혈관 내막 손상을 가한 후에 외경동맥의 기시부를 완전 결찰한 뒤 내경 동맥의 임시 결찰을 해제하고 총경동맥의 검자를 제거하여 혈류를 회복시킨 후 봉합하였다. 이와 같은 기술은 혈관손상 기술자는 맹검 상태를 취하였다. 기술 후 실험동물은 37℃의 항온 및 60%의 항습이 유지되는 실험용 축사에서 2주간 사육하였다.

### 2.3.2 실험 군 및 약제 투여방법 :

실험 군은

- 1) 용매 (생리식염수 3cc) 만 경구 투여한 군 (대조 군)
  - 2) 저 용량 (10mg/kg, bid)의 경구용 FTI를 경구 투여한 군
  - 3) 중간 용량 (50mg/kg, bid)의 경구용 FTI를 경구 투여한 군
  - 4) 고 용량 (100mg/kg, bid)의 경구용 FTI를 경구 투여한 군으로 나누었고
- 약물 투여는 실험 군에 따라 경동맥 손상 전 (30분 이상) 경구투여 하였으며 손상 후에는 각각의 약제와 생리 식염수를 하루 2번 12시간 간격으로 Zonde 카테터를 이용하여 2주간 경구투여 하였다.

### 2.3.3 실험 동물의 희생, 관류-고정 및 표본 제작

실험 동물은 혈관 손상 시술 후 2주째 마취 후 목의 정중부를 절개하고 피하를 박리 하여 경정맥을 노출시켜 놓은 뒤 배의 정중부를 절개하고 내장을 젖힌 후 복부 대동맥을 노출시킨 다음 18G의 정맥주사용 도자를 대동맥 내로 천자 삽입하였다. 여기에 생리식염수를 주입하면서 미리 노출시켜 둔 경정맥을 절개하여 출혈을 시키면서 경정맥 절개부로 맑은 생리식염수가 나올 때까지 세척한 후 소형겸자로 경정맥을 결찰하고 생리식염수 주입을 중지 후 10% formalin 용액을 5분 이상 주입하여 관류-고정을 시켰다. 고정이 끝난 후 흉곽의 정중부를 절개하여 심장과 경동맥을 같이 절제해 내어 10% formalin 용액이 담긴 표본병에 넣어 보관하였다. 이중 좌측 경동맥을 잘라내어 2mm간격으로 썰어서 5~6개의 절편으로 분리하고 이들을 파라핀에 포매한 후 5 $\mu$ m씩의 미세 절편을 만들어 hematoxylin-eosin (HE) 염색 및 Elastic-Van Gieson (EVG) 염색을 시행하였다.

### 2.3.4 조직 형태학적 분석

표본의 영상 파일 (BMP file)을 제작하고 영상 분석 소프트웨어 (SigmaScan Pro-4.01, Jandel Co. USA)를 이용하여 표본의 형태학적 분석을 시행하였다. 한 마리에서 나온 표본 중 내강 면적이 가장 작은 표본을 택하여 표본의 내강 면적 (lumen area), 내탄력층 면적 (internal elastic lamina area)과 외탄력층 면적 (external elastic lamina area)을 측정하고 내막 면적 (intimal area), 중막 면적 (medial area)과 내막 대 중막 비율 (I/M ratio)을 계산하였다.

### 2.3.5 PCNA 면역 조직학적 분석

Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 분석의 영상을 위한 조직 절편은 상기 (2.3.1, 2.3.2, 2.3.3)에서 기술 한 방법을 이용하여 실험 군별로 8마리씩 32마리를 사육한 후 3일째 희생시켜 제작하였다. 조직 절편은 PCNA에 대한 monoclonal antibody (DAKO, Carpinteria, CA)로 면역조직학적 염색 (immunochemical staining)을 시행하여 PCNA가 함유되어 염색된 세포 수를 세고 혈관 내 분포를 평가하였다. 혈관 내 분포의 평가는 표지수 (labelling index=염색반응 양성 핵수/총 핵수)×100 로 표현하였고 내막에 관찰된 총핵수를 표시하였다.

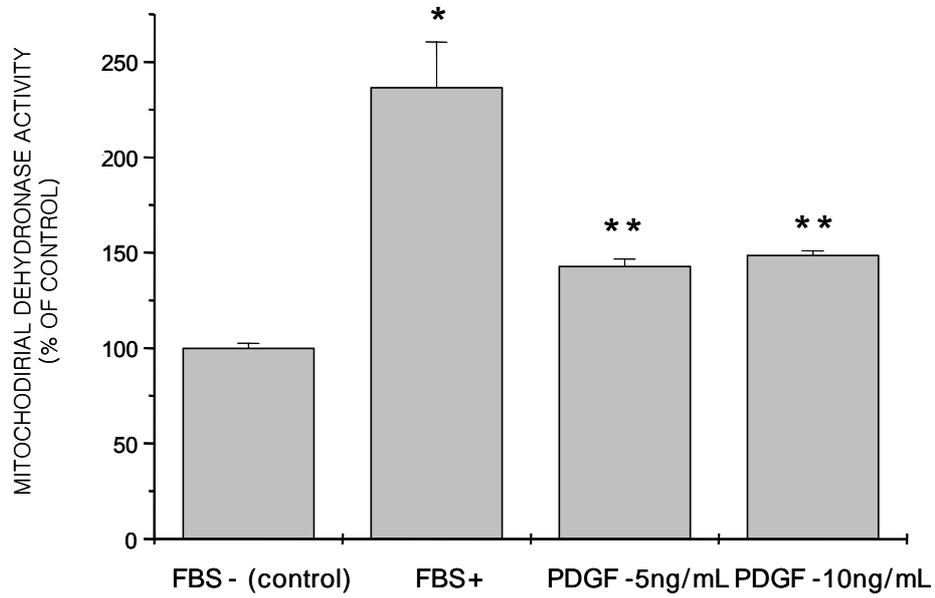
### 2.3.6 자료 분석 및 통계처리

모든 측정치는 평균±표준편차로 표시하였다. 형태학적인 분석 시 연구자는 치료 군에 대하여 맹검 상태를 취하였다. 측정값들은 통계 프로그램 (SPSS 7.5, SPSS Inc., USA)을 이용하여 각 군간 차이의 통계학적인 유의성 여부를 알기 위하여 Anova test를 하였고 차이가 존재하는 군의 관계 확인을 위해 Scheffe 검정을 시행하였으며 p값이 0.05 미만일 경우 유의한 것으로 판정하였다.

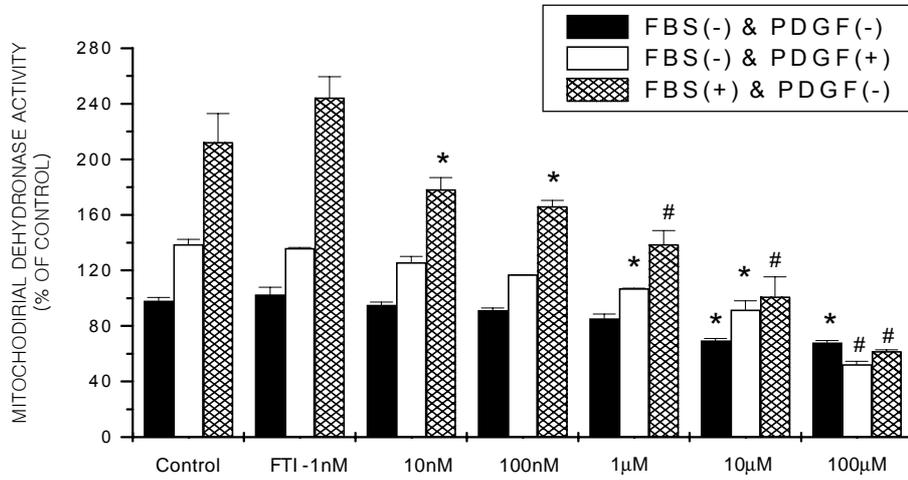
### 3. 결 과

#### 3.1 혈관 평활근 세포의 증식에 대한 FTI의 효과

혈청을 제거하고 PDGF가 없는 배양액에서 혈관 평활근 세포를 배양한 후 측정된 MD 활성도를 대조 군으로 하여 대조 군과의 비율 (% of control)로 세포 증식의 정도를 나타내었다. 배양액에 FBS를 첨가한 후에는  $212.2 \pm 20.6\%$ 로, PDGF (5ng/mL)를 첨가한 후  $138.8 \pm 8.0\%$ 로, PDGF를 10ng/mL를 첨가 한 후에는  $144.2 \pm 5.0\%$ 으로 이는 모두 대조 군 보다 유의한 MD 활성도의 증가 소견을 보였다 (Fig. 1,  $p < 0.05$ ). 또한 이 결과를 토대로 PDGF (5ng/mL) 혹은 FBS 첨가 하에 혈관 평활근 세포를 배양하면서 FTI를 농도별로 20분간처리 한 후 3일간 배양하였다. PDGF의 자극 하에서 혈관 평활근 세포를 배양하면서 FTI를 1, 10, 100 nmol/L, 1, 10, 100  $\mu$ mol/L의 농도로 20분간 처리하고 씻어낸 후 72시간 배양한 후의 MD 활성도를 약제투여 없이 PDGF만 자극한 대조 군과 비교하였고 그 결과 각각  $136.1 \pm 7.7$ ,  $125.7 \pm 6.2$ ,  $116.9 \pm 7.2$ ,  $107.1 \pm 7.5$ ,  $91.6 \pm 9.3$ ,  $52.3 \pm 3.1\%$ 로 FTI 농도가 증가할수록 MD 활성도는 감소하였고 1  $\mu$ mol/L의 농도부터 대조 군과 비교하여 유의한 감소를 보였다 (Fig. 2,  $p < 0.05$ ). 또한 FBS 첨가 하에 MD 활성도를 약제투여 없이 FBS만 첨가한 대조 군과 비교하였고 그 결과  $244.3 \pm 15.1$ ,  $178.1 \pm 12.4$ ,  $166.1 \pm 6.2$ ,  $138.8 \pm 13.9$ ,  $101.1 \pm 20.1$ ,  $61.7 \pm 1.5\%$ 로 10nmol/L의 농도부터 대조 군과 비교하여 유의한 감소를 보였다 (Fig. 2,  $p < 0.05$ ). PDGF나 FBS의 첨가 없이 같은 시험을 반복한 경우에도 약제 투여하지 않은 대조 군에 비하여 FTI농도에 따라  $112.5 \pm 7.7$ ,  $95.1 \pm 3.1$ ,  $91.3 \pm 2.3$ ,  $85.2 \pm 4.6$ ,  $69.4 \pm 2.3$ ,  $62.8 \pm 2.1\%$ 로 10  $\mu$ mol/L의 농도부터 대조 군과 비교하여 유의한 감소를 보였다 (Fig. 2,  $p < 0.05$ ).



**Fig. 1.** Effect of FBS or PDGF on the cellular proliferation of rat vascular smooth muscle cells. The PDGF-induced growth stimulation or 10% FBS inoculation on rat vascular smooth muscle cells increased MD activity significantly (\*;  $p < 0.005$  between control and PDGF, \*\*;  $p < 0.01$  between control and FBS).



**Fig. 2.** Inhibitory effects of FTI on rat vascular smooth muscle cell proliferation with or without stimulation. The PDGF-induced growth stimulatory effects on rat vascular smooth muscle cell proliferation were significantly blocked after 20-minute single incubation in above 1µmol/L concentrations (1 to 10µmol/L: \*; p<0.05, 100µmol/L: #; p<0.01). 10% FBS-induced growth effects on rat vascular smooth muscle cell proliferation were significantly blocked after 20-minute single incubation in above 10nmol/L concentrations (10 to 100nmol/L: \*; p<0.05, 1 to 100µmol/L: #; p<0.01). Without stimulation, FTI blocked vascular smooth muscle cell proliferation significantly after 20-minute single incubation in above 10µmol/L concentrations (10 to 100µmol/L: \*; p<0.05).

## 3.2. 흰쥐 경동맥 손상 모델에서 신내막 증식에 대한 FTI효과

### 3.2.1 대상 및 결과

실험에 사용된 흰쥐는 모두 42마리로서 생후 10주정도의 수컷으로 2주 후 생존한 흰쥐는 24마리로 평균체중은 282g이었다. 총 42마리 중 시술 시 3마리는 마취제 과다투여로 손실되었고 2마리는 시술직후 손실되었다. 13마리는 약제투여 기간 중 손실되어 (저용량 1, 중간 용량 5, 고용량 7) 시술 2주 후에는 대조 군 9마리, 저용량 약제 투여 군 7마리, 중간용량 약제 투여 군 6마리, 고용량 약제 투여 군 2마리가 생존하여 분석에 이용되었으며 이 중 고용량 약제 투여 군은 2마리만 생존하여 통계 분석에서는 제외 시켰다. 실험 시작 당시의 실험동물의 체중은 대조 군이 313±4g, 저용량 약제 투여 군 312±9g, 중간용량 약제 투여 군 319±5g, 고용량 약제 투여 군 315±8g로서 각 군간에 통계적으로 유의한 차이는 없었으며, 2주 후 희생시 체중이 감소하였으나 각 군간에 유의한 차이는 없었고 체중의 변화율에 있어서도 유의한 차이는 관찰되지 않았다 (Table 1).

Table 1. Comparison of body weight, intimal area, luminal area, medial area, IELA, EELA and ration of intimal to medial area among the each group.

Groups	BWT		IA	LA	MA	IELA	EELA	I/MR
	pre	post						
Control(n=9)	313±4	292±9	0.35±0.12	0.14±0.05	0.12±0.03	0.48±0.11	0.60±0.14	3.02±1.03
Low-dose(n=7)	312±9	284±11	0.23±0.12	0.11±0.07	0.12±0.03	0.35±0.15	0.47±0.16	2.24±1.43
Mid-dose(n=6)	319±5	270±9	0.19±0.11*	0.21±0.06**	0.13±0.02	0.40±0.12	0.53±0.13	1.47±0.75*
High-dose(n=2) <sup>#</sup>	315±8	260±35	0.12±0.08	0.33±0.07	0.15±0.03	0.44±0.13	0.59±0.15	0.82±0.23

n: number of available sample, Control group, only saline administration after balloon injury; Low-dose group, per oral drug (10mg/kg, bid) administration after balloon injury; Mid-dose group, per oral drug (50mg/kg, bid) administration after balloon injury; High-dose group, per oral drug (100mg/kg, bid) administration after balloon injury; BWT, body weight; IA, intimal area; LA, luminal area; IELA, internal elastic lamina area; EELA, external elastic lamina area; MA, medial area; I/MR, ratio of intimal area/medial area; Values are mean±SD; \*, p<0.05; control vs mid-dose; \*\*, p<0.05 control vs mid-dose, low-dose vs mid-dose; #, excluded from statistical analysis.

### 3.2.2 조직 형태학적 분석 결과

내막면적은 대조 군이  $0.35 \pm 0.04 \text{mm}^2$ , 저용량 약제 투여 군이  $0.23 \pm 0.04 \text{mm}^2$ , 중간용량 약제 투여 군이  $0.19 \pm 0.04 \text{mm}^2$ 로서 중간용량 약제 투여 군이 대조 군에 비해 유의하게 작은 값을 보였으나 ( $p < 0.05$ ) 저용량 약제 투여 군과는 유의한 차이가 없었다. 내강 면적은 대조 군이  $0.14 \pm 0.02 \text{mm}^2$ , 저용량 약제 투여 군이  $0.11 \pm 0.03 \text{mm}^2$ , 중간용량 약제 투여 군이  $0.21 \pm 0.02 \text{mm}^2$ 로서 중간용량 약제 투여 군이 저용량 약제 투여 군과 대조 군에 비해 유의하게 큰 값을 보였다 (Fig. 3, Fig. 4,  $p < 0.05$ ).

중막 면적 내탄력층 면적 및 외탄력층 면적에서는 세 군간의 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 내막 대 중막 비율은 대조 군이  $3.02 \pm 0.34 \text{mm}^2$ , 저용량 약제 투여 군이  $2.24 \pm 0.54 \text{mm}^2$ , 중간용량 약제 투여 군이  $1.47 \pm 0.31 \text{mm}^2$ 로서 중간용량 약제 투여 군이 저용량 약제 투여 군과 대조 군에 비해 유의하게 작은 값을 보였다 (Table 1,  $p < 0.05$ ).

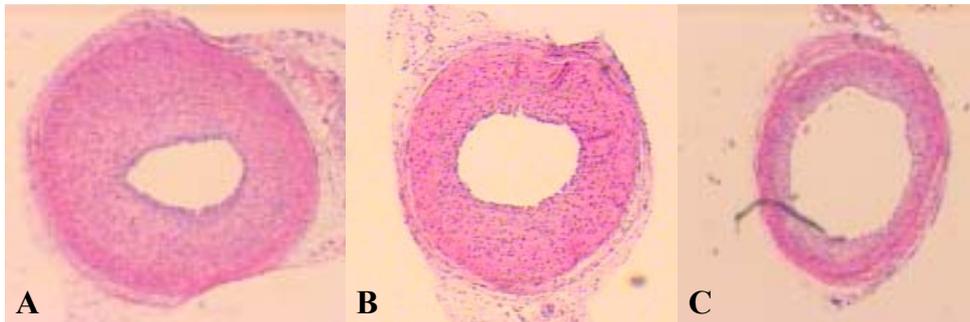


Fig. 3. A representative specimen of each study group. Control(A), low-dose(B) and mid-dose(C) administration after vascular injury. The neointimal area was significant decreased in mid-dose(C), then control group(A). ( $p < 0.05$ , HE stain,  $\times 40$ )

### 3.2.3 PCNA 면역 조직학적 분석 결과

PCNA 분석은 총 32마리 중 시술 시 마취제 과다투여로 손실된 2마리를 제외하고 시술 3일 후 생존한 대조 군 6마리, 저용량 약제 투여 군 8마리, 중간용량 약제 투여 군 8마리, 고용량 약제 투여 군 8마리를 분석에 이용하였다. 표지지수 (labelling index)는 대조 군  $71 \pm 9$ , 저용량 약제 투여 군  $73 \pm 9$ , 중간용량 약제 투여 군  $54 \pm 14$ , 고용량 약제 투여 군  $53 \pm 9$ 로 중간용량 약제 투여 군과 고용량 약제 투여 군에서 대조 군과 저용량 약제 투여 군에 비하여 유의하게 낮았고 (Table 2,  $p < 0.05$ ), 중간용량 약제 투여 군과 고용량 약제 투여 군 사이에는 유의한 차이가 없었다. 또한 손상 후 중막에 관찰된 총핵수도 중간용량 약제 투여 군과 고용량 약제 투여 군에서 대조 군과 저용량 약제 투여 군에 비하여 유의하게 낮았다 ( $p < 0.05$ ).

Table 2. Comparison of PCNA (+) cell count and labeling index among control, low-dose, mid-dose and high-dose group

	PCNA (+) cell count	Labeling index
Control(n=6)	$121 \pm 32$	$71 \pm 9$
Low-dose(n=8)	$107 \pm 21$	$73 \pm 9$
Mid-dose(n=8)	$80 \pm 31^*$	$54 \pm 14^*$
High-dose(n=8)	$74 \pm 12^{**}$	$53 \pm 9^{**}$

Values are expressed mean  $\pm$  SD.

\*  $p < 0.05$ ; control or low dose vs mid-dose, \*\*  $p < 0.05$ ; control or low dose vs high-dose

## 4. 고찰

본 연구에서 farnesyl transferase inhibitor를 이용하여 실험실내에서 혈관 평활근 세포의 증식억제 및 흰쥐의 풍선 손상 모델에서 풍선 손상후 신내막 증식 억제를 증명하였다.

### 4.1 세포내 ras-protein과 farnesyl transferase inhibitor

과도한 혈관 손상 후 신내막 형성의 과정으로는 평활근 세포의 활성화와 증식, 내피로의 이동과 섬유아 세포에서 생성되는 세포외 기질의 생성으로 알려져 있다. 이런 혈관 평활근 세포의 증식과 내피로의 이동을 촉진시키는 물질로 손상 받은 혈관에서 활성화된 혈소판 및 내피세포에서 생성되는 PDGF와 손상 받은 중막의 평활근 세포에서 생성되는 PDGF, basic fibroblast growth factor (bFGF), transforming growth factor (TGF), insulin growth factor (IGF) 등의 성장인자가 관여하며 angiotensin II, serotonin 및 endothelin 등이 관여하는 것으로 알려져 있다.<sup>2,5,16)</sup> 그러므로 기전적으로 혈관 평활근 세포의 증식을 억제하는 약제는 혈관 손상 후의 신내막 형성을 억제 할 수 있다. 이런 평활근 세포를 포함한 세포의 증식 및 활성화에는 세포내에서 활성화된 ras-proteins이 성장인자에 의한 외부의 자극을 세포내로 전달되는 매개 역할을 하여 세포내 protooncogene (c-myc, c-myc, c-fos)을 활성화 시켜 세포의 활성화가 촉진된다고 알려지고 있다.<sup>7,9-10)</sup> 이런 ras-protein의 활성화에 farnesyl transferase에 의한 catalyze가 중요한 역할을 하며 ras-protein은 세포막과 핵내세포 (nuclear effect cell) 사이에 신호를 전달하는 중요한 연결 고리로 작용하는 것으로 보고되었다. 이에 ras-protein의 활성화를 막는 것이 세포 증식 및 활성화를 억제에 중요하다고 하겠다.<sup>12-13)</sup> 또한 이와 같은 ras-protein의 작용이 혈관 평활근 세포에도 알려지고 이 약제를 이용하여 최근 혈관내막증식을 유전적 방법으로 치료하려는 시도가 있으면서 antisense oligonucleotide technology를 이용하여 farnesyl transferase에 대한 antisense oligonucleotide를 주입하여 신내막 증식을 억제하였다.<sup>6,14)</sup>

## 4.2 실험실내에서 FTI의 혈관 평활근 세포 증식 억제에 대한 효과

본 연구에 이용된 약제는 실험실에서 개발된 farnesyl transferase inhibitor의 일종으로 본 실험에서 그 기전 내지는 신호 전달 체계등을 증명하기보다는 약제가 실지 혈관 평활근 세포를 억제하는지에 대한 효능에 관한 실험이다.

최근 Cohen 등이 farnesyl transferase inhibitor 의 유도체를 이용하여 사람의 혈관 평활근 세포를 이용하여 세포 증식에 대한 연구를 보고하였다.<sup>15)</sup> 이 연구에서도 PDGF 혹은 bFGF를 자극된 DNA합성을 약제의 농도에 따라 감소 시켰고 일부 약제에서는 100 $\mu$ mol의 농도로 29시간 전처리 후에 DNA 합성 정도를 평가하여 합성이 유의하게 억제됨을 보고하였다. 이 중 가장 약제 효과가 강한 것이 IC<sub>50</sub> 값이 340nmol이었고 약제 효과가 약한 약제는 1-10 $\mu$ mol 보고하였다. 본 연구에서는 흰쥐 혈관 평활근 세포를 이용하였으므로 직접적인 비교는 어렵지만 약제가 농도와 비례하여 PDGF로 자극된 세포의 증식 정도를 억제하였다. 본 약제는 IC<sub>50</sub> 값이 100 $\mu$ mol 정도로 Cohen 등의 약제보다는 약한 것으로 판단된다. 본 연구에서는 세포의 활성화도 (MTT assay)로 세포의 증식을 측정하였고 Cohen등은 DNA 합성을 이용하여 평가하였기 때문에 그 정도 및 결과는 다소 차이가 있을 것이라 사료된다. 본 연구에서도 PDGF로 자극된 세포에서나 FBS 첨가시 약제의 효과가 더 강화되어 나타났으며 이는 기전 상 PDGF등은 세포 주기 G1 phase에 Ras-MAP kinase signal transduction 경로를 통해 세포의 성장을 활성화시키므로<sup>16)</sup> 본 약제도 이 경로를 억합하여 혈관 평활근 세포의 증식을 억제하는 것으로 추정할 수 있다. 하지만 본 실험이 기전적 연구에서 DNA 합성 및 세포 활성화도 모두 측정하지 않았고 세포의 활성화도만을 보았으므로 경로 및 기전을 규명하기에는 미흡하다고 생각된다.

### 4.3 흰쥐 경동맥 손상 모델에서 신내막 증식에 대한 FTI효과

본 실험에서는 흰쥐 경동맥 손상 모델에서 2주간 FTI의 경구투여가 신내막 증식을 억제함을 입증하였다.

본 연구에서 사용된 혈관손상 방법은 풍선을 이용하여 쥐의 경동맥 내강을 훑어냄으로써 혈관 내피의 손상을 유발하는 방법으로 혈관손상이 국소적이며 일정할 뿐만 아니라 손상혈관의 전장에 걸쳐 혈관 평활근 세포의 이동과 증식이 개체마다 높은 재현성을 가지고 나타나 혈관 재협착 연구에 있어 매우 좋은 생체 내 실험 모델이다.<sup>17-19)</sup> 본 연구에서의 조직학적 측정치들이 다른 연구자들이 보고한 수치와 비슷하였다.<sup>20)</sup> 또한 신내막 증식에 대한 약제의 효과에서 용량이 증가할수록 신내막 면적의 감소가 관찰되고 있으나 저용량 군에서는 대조 군에 비하여 통계학적인 유의성은 관찰되지 않았고, 중간 용량 투여 군에서는 대조 군에 비하여 통계학적으로 유의한 신내막 억제 효과가 있음을 보여주었다. 본 실험에서는 생존이 2마리에 불과하여 분석에서는 제외하였으나 신내막 면적에 있어서는 현저한 효과를 보여 주고 있다. 이와 같은 결과는 어느 정도 농도에 비례하여 신내막 증식을 억제하였으리라 추측된다. 또한 일반적인 혈관 내피 손실을 유발시킨 부위에는 혈관 평활근과 내피세포의 증식이 뒤따르게 되고 손상 후 24시간에서 72시간 사이에 증식중인 평활근 세포의 대부분은 성장기로 진입하여 중막에서 내막으로의 이주를 시작한다.<sup>416)</sup> 본 연구에서는 PCNA를 이용하여 내막으로 이주한 성장기 세포의 정도를 측정하였고 중간 용량 및 고용량 투여 군에서 대조 군 및 저용량 투여 군보다 표시지수가 낮아 성장하는 평활근 세포의 정도를 측정하여 약제의 효과가 이들 평활근 세포의 성장을 억제함을 확인하였다.

본 실험에서 사용된 약제의 안전성에 대해서는 저농도 및 중간 농도에서는 대조군과 비교하여 실험동물의 손실이 비슷하였다. 이는 약제의 투약에 있어 하루에 2회씩 마취 없이 직접 경구 투여하였기 때문에 전 실험 동물에서 시술 전에 비하여 희생 당시 체중의 감소가 관찰되었고 약제 투여와 연관되어 동물에 상당한 스트레스로 작용되었을 것으로 사료되나 각 군간의 체중에 통계적인 유의성은 없었다. 하지만 고농도 (100mg/kg, bid) 에서는 실험 동물의 손실이 보다 많이 관찰

되어 약제의 장기적인 투여의 합병증의 가능성을 시사한다고 하겠다.

본 실험의 결과로 farnesyl transferase inhibitor인 LB42908a가 실험실에서 혈관 평활근 세포의 증식을 억제하고 흰쥐 경동맥 손상 모델에서 혈관 손상 후 신내막 증식을 억제하였으므로 보다 큰 동물모델에서 신내막 증식 억제에 대한 실험이 필요하리라 생각되며 이에 따라 혈관 성형술 후 재협착 치료제로서의 가능성을 전망할 수 있을 것이라 생각된다.

## 5. 결 론

본 연구에서 FTI가 실험실내에서 혈관 평활근 세포의 증식억제 및 흰쥐의 풍선 손상 모델에서 풍선 손상후 신내막 증식 억제하리라는 가설 하에 실험실내에서 혈관 평활근의 세포 증식에 관한 FTI의 효과를 분석하였고, 흰쥐의 경동맥 손상 모델에서 실험 군으로 대조군, 저 용량 투여 군, 중간 용량 투여 군, 고 용량 투여 군으로 나누어 손상 후 2주째 희생시켜 얻은 경동맥 표본을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. platelet derived growth factor (PDGF, 5ng/ml) 자극 혹은 fetal bovine serum (FBS) 첨가 하에 혈관 평활근 세포 배양시 FTI는 농도가 증가할수록 세포 증식 정도가 대조 군에 비하여 유의하게 점진적으로 감소시켰다 ( $p<0.05$ ).
2. 내막면적은 대조 군이  $0.35\pm 0.04\text{mm}^2$ , 저용량 약제 투여 군이  $0.23\pm 0.04\text{mm}^2$ , 중간 용량 약제 투여 군이  $0.19\pm 0.04\text{mm}^2$ 로 중간용량 약제 투여 군이 대조 군에 비해 유의하게 작은 값을 보였으나( $p<0.05$ ), 저용량 약제 투여 군과는 유의한 차이가 없었다. 내강 면적은 대조 군이  $0.14\pm 0.02\text{mm}^2$ , 저용량 약제 투여 군이  $0.11\pm 0.03\text{mm}^2$ , 중간용량 약제 투여 군이  $0.21\pm 0.02\text{mm}^2$ 로 중간용량 약제 투여 군이 저용량 약제 투여 군과 대조 군에 비해 유의하게 큰 값을 보였다 ( $p<0.05$ ). 신내막 증식에 대한 약제의 효과에서 FTI의 용량이 증가할수록 신내막 면적이 감소되었으나 저용량 군에서는 대조 군에 비하여 통계학적인 유의성은 관찰되지 않았고, 중간 용량 투여 군에서는 대조 군에 비하여 통계학적으로 유의한 신내막 억제 효과가 있었다 ( $p<0.05$ ).
3. PCNA 면역 조직학적 분석의 결과 표지지수 (labelling index)는 대조 군  $71\pm 9$ , 저용량 약제 투여 군  $73\pm 9$ , 중간용량 약제 투여 군  $54\pm 14$ , 고용량 약제 투여 군  $53\pm 9$ 로 중간용량 약제 투여 군과 고용량 약제 투여 군에서 대조 군과 저용량 약제 투여 군에 비하여 유의하게 낮았다 ( $p<0.05$ ).

이상의 결과로 첫째, FTI는 흰쥐의 혈관 평활근 세포의 증식을 FTI가 농도가 증가함에 따라 세포의 증식을 유의하게 억제하였고 둘째, 흰쥐의 경동맥 손상 모델에서 약제의 용량이 증가할수록 신내막 면적을 유의하게 감소시켰다. 따라서 FTI가 관동맥 성형술 후 재협착 치료의 효과적인 약물로서 적용 가능성이 있다 하겠다.

## 참고문헌

1. Gruentzig A, Senning A, Siegenthaler W. Nonoperative dilation of coronary artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty. *New England Journal of Medicine* 301:61-68, 1979.
2. McBride W, Lange RA, Hillis LD. Restenosis after successful coronary angioplasty. Pathophysiology and prevention. *New England Journal of Medicine* 318:1734-7, 1988.
3. Nobuyoshi M, Kimura T, Nosaka H, Mioka S, Ueno K, Yokoi H, Hamasaki N, Horiuchi H, Ohishi H. Restenosis after successful percutaneous transluminal coronary angioplasty: serial angiographic follow-up of 229 patients. *Journal of the American College of Cardiology* 12:616-23, 1988.
4. Hanke H, Strohschneider T, Oberhoff M, Betz E, Karsch KR. Time course of smooth muscle cell proliferation in the intima and media of arteries following experimental angioplasty. *Circulation Research* 67:651-9, 1990.
5. Casscells W, Engler D, Willerson JT. Mechanisms of restenosis. *Texas Heart Institute Journal* 21:68-77, 1994.
6. Isner JM, Walsh K, Symes J. Arterial gene therapy for restenosis. *Human Gene Therapy* 7:989-1011, 1996.
7. Gibbs JB, Graham SL, Hartman GD, Koblan KS, Kohl NE, Omer CA, Oliff A. Farnesyltransferase inhibitors versus Ras inhibitors. *Current Opinion in Chemical Biology* 1:197-203, 1997.
8. Kohl NE, Koblan KS, Omer CA, Oliff A, Gibbs JB. Biochemical and biological analyses of farnesyl-protein transferase inhibitors. *Methods Molecular Biology* 84:283-91, 1998.

9. Qian Y, Sebti SM, Hamilton AD. Farnesyltransferase as a target for anticancer drug design. *Biopolymers* 43:25-41, 1997.
10. Kelloff GJ, Lubet RA, Fay JR, Steele VE, Boone CW, Crowell JA, Sigman CC. Farnesyl protein transferase inhibitors as potential cancer chemopreventives. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 6:267-82, 1997.
11. Liu M, Bryant MS, Chen J, Lee S, Yaremko B, Li Z, Dell J, Lipari P, Malkowski M, Prioli N, Rossman RR, Korfmacher WA, Nomeir AA, Lin CC, Mallams AK, Doll RJ, Catino JJ, Girjavallabhan VM, Kirschmeier P, Bishop WR. Effects of SCH 59228, an orally bioavailable farnesyl protein transferase inhibitor, on the growth of oncogene-transformed fibroblasts and a human colon carcinoma xenograft in nude mice. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 43:50-8, 1999.
12. Mangues R, Corral T, Kohl NE, Symmans WF, Lu S, Malumbres M, Gibbs JB, Oliff A, Pellicer A. Antitumor effect of a farnesyl protein transferase inhibitor in mammary and lymphoid tumors overexpressing N-ras in transgenic mice. *Cancer Research* 58:1253-9, 1998.
13. Aoyama T, Satoh T, Yonemoto M, Shibata J, Nonoshita K, Arai S, Kawakami K, Iwasawa Y, Sano H, Tanaka K, Monden Y, Kodera T, Arakawa H, Suzuki-Takahashi I, Kamei T, Tomimoto K. A new class of highly potent farnesyl diphosphate-competitive inhibitors of farnesyltransferase. *Journal of Medicinal Chemistry* 41:143-714, 1998.
14. Chemla E, Castier Y, Julia P, Pirotski E, Carpentier A, Fabiani JN. Inhibition of intimal hyperplasia by an antisense oligonucleotide of farnesyl transferase delivered endoluminally during iliac angioplasty in a rabbit model. *Annals of Vascular Surgery* 11:581-715, 1997.

15. Cohen LH, Pieterman E, van Leeuwen RE, Du J, Negre-Aminou P, Valentijn AR, Overhand M, van der Marel GA, van Boom JH. Inhibition of human smooth muscle cell proliferation in culture by farnesyl pyrophosphate analogues, inhibitors of in vitro protein: farnesyl transferase. *Biochemical Pharmacology*, 57:365-373,1999.
16. Negre-Aminou P, van Vliet AK, van Erck M, van Thiel GC, van Leeuwen RE, Cohen LH. inhibition of proliferation of human smooth muscle cells by various HMG-CoA reductase inhibitors; comparison with other human cell types. *Biochemical Biophysics Acta*, 1345:259-268,1997.
17. Clowes AW, Clowes MM, Fingerle J, Reidy MA. Kinetics of cellular proliferation after arterial injury. v. Role of acute distension in the induction of smooth muscle proliferation. *Laboratory Investigation* 60:360-364, 1989.
18. Himmelfarb J, Couper L. Dipyridamole inhibits PDGF- and bFGF-induced vascular smooth muscle cell proliferation. *Kidney International* 52:1671-1677, 1997.
19. Muller DWM, Ellis SG, Topol EJ. Experimental models of coronary artery restenosis. *Journal of the American College of Cardiology* 19:418-432, 1992.
20. Yoon YS, Jang YS, Chung KH, Kim HK, Park YS, Kang WC, Kwon JW, Chung BY, Cho SH, Kim SS. The effect of estrogen containing liposome local delivery on the neointimal hyperplasia in the rat carotid artery balloon-injury model. *Korean Circulation Journal* 28:1357-1371, 1998.

## Abstract

# The effect of farnesyl transferase inhibitor on the proliferation of vascular smooth muscle cells and neointima formation in rat carotid injury model

Yoo, Byung Su

Dept. of Medicine

The Graduate School Yonsei University

(Directed by Professor Yoon Junghan)

Intimal hyperplasia is due mainly to proliferation and migration of smooth muscle cell (SMC). Activation of SMC results from stimulations of protooncogenes by growth factors induced by activated ras-protein. Ras-proteins becomes activated after receiving a farnesyl group in a reaction catalyzed by farnesyl transferase. We tested the hypothesis that prolonged oral administration of farnesyl transferase inhibitor (FTI, LB42908a, MW=604, LG Chemical, Korea), might inhibit the neointimal thickening in rat carotid injury model.

Cultured aortic vascular SMCs were exposed to sequential concentrations of FTI *in vitro*, and proliferation inhibition was analyzed with MTT assay. In rat carotid injury model, FTI (low-dose; 10mg/kg, bid; mid-dose; 50mg/kg, bid; high-dose; 100mg/kg, bid) or placebo was administrated orally twice a day starting from 30minutes before injury until sacrifice for 14days. The

histo-morphometric analysis for lumen area, intimal area, medial area, intima-to-medial ratio was performed.

In vitro rat aortic SMC culture study, FTI inhibited PDGF or FBS-induced cellular proliferation in a dose dependently manner. In rat carotid artery balloon injury model, the mean neointimal area was significantly reduced in mid-dose group than placebo group or low-dose group (control :  $0.35\pm 0.04\text{mm}^2$ , low-dose:  $0.23\pm 0.04\text{mm}^2$  mid-dose:  $0.19\pm 0.04\text{mm}^2$ ,  $p<0.05$ ) and the mean ratio of neointima to medial area were significantly reduced in mid-dose group than in placebo group or low dose group (placebo:  $3.02\pm 0.34$ , low-dose:  $2.24\pm 0.54\text{mm}^2$  mid-dose:  $1.47\pm 0.31\text{mm}^2$ ,  $p<0.05$ ). There was no significant difference in the mean area of internal elastic lamina, external elastic lamina and mean luminal area between groups( $p>0.05$ ). The labelling index of PCNA was significantly reduced in mid-dose group than placebo group or low-dose group (control :  $71\pm 9$ , low-dose:  $73\pm 9$ , mid-dose:  $54\pm 14$ , high-dose:  $53\pm 9$ ,  $p<0.05$ )

FTI inhibits SMC proliferation in a dose dependent manner. Prolonged 14-day oral administration of FTI is effective in reducing the neointimal hyperplasia in rat carotid balloon injury model.

---

**Key Words** : farnesyl transferase inhibitor, neointima, smooth muscle cell