

유착 방지 재료인 Sodium hyaluronate의
재료 형태별 효능 평가

연세대학교 대학원
의 학 과
이 창 목

유착 방지 재료인 Sodium hyaluronate의
재료 형태별 효능 평가

지도 손 승 국 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2003년 12월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

이 창 목

이창목의 석사 학위논문을 인준함

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

연세대학교 대학원

2003년 12월 일

감사의 글

본 논문의 시작에서 완성까지 물심양면으로 도움을 주시고 지도편달을 아끼지 않으신 손 승국선생님과 아낌없는 조언과 교정을 해주신 서 활선생님과 윤 동섭 선생님께 진심으로 감사를 드립니다.

또한 바쁘신 가운데서도 연구과정중에 많은 도움을 주신 권 성원선생님과 심 희수선생님께 깊은 감사의 마음을 전합니다.

어려운 생활속에서 석사학위 과정을 성공적으로 마칠 수 있도록 도움과 격려를 해주신 가족 모든 분들께 진심으로 감사드립니다.

저자 씀

차 례

그림 및 표 차례	ii
국문요약	1
I. 서 론	3
II. 재료 및 방법	5
1. 재료	5
가. 유착방지용 재료	5
나. 실험동물	5
2. 실험 방법	5
가. 실험 방법	5
나. 유착의 평가	7
다. 통계학적 처리	8
III. 결 과	9
1. 대조군과 실험군 간의 유착방지효과	9
2. 실험군 간의 유착방지효과	10
IV. 고 찰	12
V. 결 론	18
참고문헌	19
영문요약	24

그림 차례

그림 1. 동물 실험 방법1	6
그림 2. 동물 실험 방법2	6
그림 3. 동물 실험 방법3	6
그림 4. 동물 실험 방법4	7

표 차례

표 1. 유착의 정도의 등급 분류	7
표 2. 유착의 세기의 등급 분류	8
표 3. 각각의 군 간의 유착형성의 평가결과	9
표 4. 네 가지 실험군 간의 유착의 정도평가	10
표 5. 네 가지 실험군 간의 유착의 세기평가	10
표 6. 네 가지 실험군 간의 유착의 면적평가	11

국문 요약

유착 방지 재료인 Sodium hyaluronate의 재료 형태별 효능 평가

복부 수술 후 유착은 대부분의 환자군에서 발생하고 있으며, 임상적으로 장폐색증, 만성통증, 성기능 장애, 불임 등의 원인이 되며, 유착으로 인해 합병증 발생 시 막대한 의료비 지출의 요인이 되고 있다. 최근 들어 여러 가지 고분자재료를 이용한 물리적인 장벽들이 유착 방지에 효과적이라고 보고되고 있다. 이러한 유착방지제 중에서 alginate, carboxy methyl cellulose(CMC), sodium hyaluronate(HA), polyethylen glycol, Poloxamer 등의 수용성 고분자 물질에 대한 유착방지 효과에 대하여 발표된 결과 생체유래물질인 HA와 cellulose의 변성재료인 CMC가 우수한 유착방지 효과를 나타내었으나, CMC의 경우 염증반응이 일부 발생함을 알 수 있었다. 이러한 기초 연구를 토대로 유착 방지제의 개발을 위해서, 여러 가지 고분자 재료 중 생체 적합성과 유착 방지 효능에 있어서 가장 우수한 결과를 보인 HA를 선택하였다. HA는 재료 형태에 따라 사용 방법, 유착 방지 효과 등이 달라질 수 있으므로 이를 비교 하고자, 용액, 분말, 필름, 스폰지의 여러 형태별로 제조하여 유착방지 효능을 평가하였다. 용액형 HA는 0.5%로 제조하여 사용하였으며, 분말형은 0.03g을 사용하였다. 또한 필름형과 스폰지형은 수용성 가교제인 EDAC(1-ethyl-3-dimethyl aminopropyl carbodiimide)로 가교 후 제조하여 사용하였다. 복부 유착 동물 모델로 Sprague-Dawley rat을 사용하였으며, 정중 개복 하에 맹장과 내부 복벽에 bone burr를 이용하여 $1 \times 2 \text{cm}^2$ 크기로 장막과 복막에 손상을 준 후, 손상 부위 주위로 3군데 봉합을 시행하여 맞닿은 두 면에 유착이 생성되도록 하였다. 대조군(N=40)의 경우에는 별다른 조치 없이 2주가 경과 한 후 개복을 시행하였으며, 실험군(N=67)에서는 각각의 재료를 손상 부위 주변에 투여하고 2주 후에 개복하여 유착 정도를 평가하였다. 유착의 정도(0에서 5단계)와 세기(1에서 4단계)는 육안적으로 평가하였으며, 유착의 면적도 함께 측정하였다. 대조군에서는 유착의 정도 및 세기가 각각 평균 4.8과 3.9를 나타내었으나, 실험군에서는 용액형이 각각 3.4와 2.4,

분말형은 2.7과 1.9, 필름형은 3.0과 2.3, 스폰지형은 2.6과 1.0을 나타내었다. 또한 유착면적의 측정 결과에서도 유착정도 및 유착세기와 유사한 결과를 나타내었다. HA 재료 형태별 유착방지 효과는 분말형과 스폰지형이 우수하였으며, 특히 스폰지형이 다른 형태에 비하여 유착방지 성능이 우수한 것을 알 수 있었다.

핵심되는 말 : 유착 방지 재료, sodium hyaluronate

유착 방지 재료인 Sodium hyaluronate의 재료 형태별 효능 평가

<지도교수 손승국>

연세대학교 대학원 의학과

이 창 목

I. 서 론

유착은 다양한 수술 후에 발생하고 있으며, 특히 골반에 유착이 발생하는 경우 만성통증, 성기능 장애, 불임 등의 원인이 되기도 하며, 척추 수술의 경우 유착이 발생하면 신경이 압박되어 유착을 박리하기 위한 2차 수술이 요구되기도 한다. 이러한 유착은 경제적으로도 커다란 부담이 되고 있으며, 1988년 미국 통계자료에 의하면, 복부 수술 후 유착으로 인한 합병증의 치료에 사용된 비용이 12억 달러에 이른다고 보고 되었다.¹ 복부수술 후 유착에 의해 발생하는 합병증으로는 소장 폐쇄가 49-74%, 불임이 15-20%, 만성 골반 통증이 20-50%,² 후속 수술 시 장 천공이 19% 정도에 이르는 것으로 알려져 있다.³ 또한 이비인후과의 경우 만성부비동염의 처치를 위한 비강 내시경술 후 재발율이 환자의 7.6-38%에 이르고 있는데,⁴ Ramadan은 이로 인하여 재수술을 받는 환자의 56%에서 유착이 발생되어 있었다고 보고하였다.⁵ 한편 산부인과의 경우 불완전한 유산, 사산, 재발성 유산 등에 대한 소파술을 비롯해 자궁 내 외상 후 자궁내막에 유착이 발생하며, 이러한 유착으로 인해 불임, 무월경, 습관성 유산 등이 초래되는 것으로 알려져 있다.⁶

이러한 유착을 방지하는 방법으로는 수술 시 상처를 최소화하거나, 항염제의 사용 혹은 섬유소의 형성을 막기 위해 tissue plasminogen activator를 활성화시키는 방법 등이 있고,⁷ 최근에는 물리적 장벽을 사용하는 방법이 개발되어 사용되고 있다.⁸

장벽용으로 사용하는 경우 조직의 상처가 치유되는 동안 물리적인 장벽으로 작용하며, 인접한 조직 사이에 유착이 형성되는 것을 막아 준다. 한편 일정기간의 상처 치유가 끝난 후에는 분해 혹은 흡수되어 제거되어야 하며, 장벽용 재료 자체 혹은 그 분해산물이 인체에 무해하여야 한다. 이러한 유착방지용 재료로는 다당류의 일종인 oxidized regenerated cellulose, sodium carboxymethyl cellulose(CMC), dextran, sodium hyaluronate(HA) 등이 있으며, 합성 고분자인 polyethylene glycol-polypropylene glycol(PEG-PPG, Poloxamer), polyethylene glycol(PEG), Gore-Tex 등이 알려져 있다.

이들 재료 중에서 CMC는 음이온성 셀룰로오스 유도체로써, 고점도의 수용액을 제공하며 증점제, 안정화제, 현탁제, 바인딩제 등으로 식품 및 의약품 분야에서 널리 사용되어 왔다. CMC 용액은 dextran-70 보다 쥐⁹와 토끼¹⁰의 유착형성 방지 실험에서 보다 효과적이고 독성이 낮은 것으로 나타났다. 또한 HA는 세포외 기질을 구성하는 생체 성분의 하나로써, 즉 결합조직에서 발견되는 다당류의 일종이다. 이는 점성이 있는 용액이나 고체의 막으로써 만들어질 수 있다. 하부 직장 에 대한 수술을 시행받는 환자를 대상으로 한 무작위 연구에서 hyaluronic acid를 이용한 유착방지제를 사용하여 유착 형성을 감소시킬 수 있는 지 확인한 결과 대조군에 비해 유착형성이 적었음을 보고하였다.¹¹ 심 등은 생체유래물질인 sodium hyaluronate와 cellulose의 변성재료인 CMC가 우수한 유착 방지 효과를 나타내었고 CMC의 경우 염증반응이 일부 발생함을 보고하였다.¹² 이러한 기초 연구를 토대로 유착방지제의 개발을 위해서 여러 가지 고분자 재료 중 생체 적합성과 유착 방지 효능에 있어서 가장 우수한 결과를 보인 것은 sodium hyaluronate이었다.

같은 고분자 재료라 할지라도 투여방법과 투여형태에 따라 그 효과가 달라지는지 즉 어떠한 형태의, 어떤 방법으로 sodium hyaluronate를 투여하는 경우에 유착 방지 효과가 가장 우수한지에 대한 연구가 필요하다.

이에 본 연구에서는 sodium hyaluronate를 용액형, 분말형, 필름형, 스폰지형 등의 여러 가지 형태별로 제조하여 각각의 형태에 따른 유착 방지 효과를 평가하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

가. 유착방지용 재료

유착 방지용 재료로써 sodium hyaluronate를 네 가지 형태로 제조하여 사용한다. 용액형은 0.5%로 제조하여 6ml를 사용하고 분말형은 0.03g을 사용하였다. 필름형과 스폰지형은 수용성 가교제인 EDCA (1-ethyl-3-dimethyl aminopropyl carbodiimide)로 가교 후 제조하여 2cm²를 사용하였다. 실험동물의 마취약으로는 ketamine hydrochloride를 사용하였다.

나. 실험동물

유착방지 실험을 위한 동물모델로 Sprague-Dawley rat(female, Sam: TacN(SD)BR, Samtako Co., Seoul, Korea)을 사용하였으며, 4주령의 몸무게 250-300g의 것을 사용하였다. 대조군은 40마리, 용액형 29마리, 분말형 19마리, 스폰지형 11마리, 필름형 8마리에 대해 유착형성에 대하여 실험하였다.

2. 실험 방법

가. 실험 방법

실험동물의 마취를 위하여 ketamine hydrochloride를 체중 100g당 5mg씩 복강 내에 주사하였고, 마취가 불충분한 경우 체중 100g당 2.5mg을 추가로 주사하였다. 마취가 되면 몸무게를 다시 측정하여 기록한 후 복부의 털을 깎고 포비돈으로 소독한 다음 4-5cm 정도로 중앙선을 따라 개복술을 실시하였다. 그리고 맹장을 꺼내어 1x2cm² 크기로 bone burr를 이용하여 출혈이 일어날 정도로 장막에 손상을 가하고, 마주 보이는 복강막에 같은 크기로 bone burr로 손상을 가하였다. 두 손상면을 맞닿도록 마찰 손상 부위로부터 1cm 떨어진 3곳을 4-0 Nylon 봉합사로 고정함으로써 유착의 형성을 촉진시켰다. 대조군인 경우에는 별도의 조치없이, 실험군의 경우에는 각각의 형태별 유착방지용 재료를 주입하고 복강막을 연속 봉합방법에 의하여 봉합하였으며, 피부도 마찬가지로 방법으로 봉합하였다. 수술이 끝난 동물은

물과 먹이를 충분히 주면서 2주간 키운 후 희생시켜 유착의 정도를 평가하였다(그림 1,2,3,4).

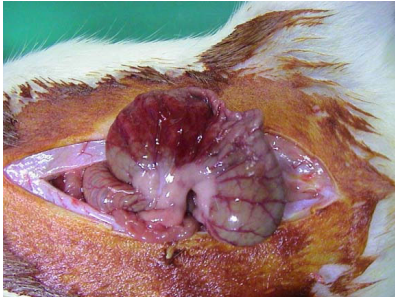


그림 1. 실험동물을 마취한 뒤 정중선을 개복하여 맹장의 장벽을 bone burr를 이용하여 찰과상을 주었다.

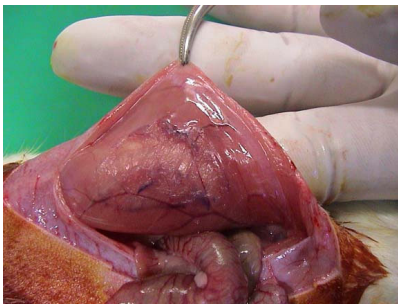


그림 2. 실험동물의 맹장과 맞닿을 복벽에 bone burr를 이용하여 찰과상을 주었다.

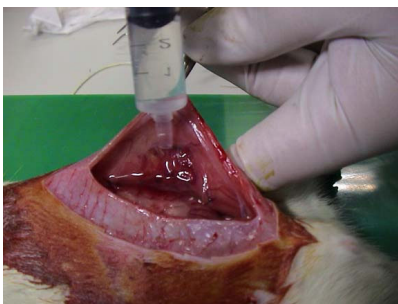


그림 3. 맹장의 장벽과 복벽을 4-0 Nylon를 이용하여 3곳을 고정하고 실험군의 경우에 유착 방지제를 투여하였다.



그림 4. 유착 형성 실험 2주 후에 정중선으로 개복하여 유착의 정도, 유착의 세기 및 유착의 면적을 측정하였다.

나. 유착의 평가

유착의 정도에 대한 평가는 Vlahos 등의 방법¹³에 따라 실시하였다. 즉 유착정도(Degree)는 0에서 5까지 분류하며, 0 = 유착이 없는 경우, 1 = 하나의 얇은 필름형 유착, 2 = 둘 이상의 얇은 필름형 유착, 3 = 점상의 집중화된 두꺼운 유착, 4 = 판상의 집중화된 두꺼운 유착, 5 = 혈관이 형성된 매우 두꺼운 유착 혹은 하나 이상의 판상의 두꺼운 유착으로 분류한다(표 1). 또한 유착세기(Strength)를 1에서 4까지 네 등급으로 분류하며, 1 = 필름형이며 매우 약한 힘으로도 떨어지는 유착, 2 = 중간 정도의 힘이 요구되는 유착, 3 = 상당한 압력이 걸려야 떨어 수 있는 유착, 4 = 유착이 매우 강해서 떼기 힘들거나, 매우 큰 압력이 요구되는 경우로 분류하였다(표 2).

표 1. 유착의 정도의 등급 분류

등급	정의
0	유착없음
1	하나의 얇은 필름형 유착
2	둘 이상의 얇은 필름형 유착
3	점상의 집중화된 두꺼운 유착
4	판상의 집중화된 두꺼운 유착
5	혈관이 형성된 매우 두꺼운 유착

표 2. 유착의 세기의 등급 분류

등급	정의
1	필름형이며 매우 약한 힘으로도 떨어지는 유착
2	중간 정도의 힘이 요구되는 유착
3	상당한 압력이 걸려야 뗄 수 있는 유착
4	유착이 매우 강해서 떼기 힘들거나, 매우 큰 압력이 요구되는 경우

각 군에서 유착의 정도와 유착의 세기를 앞에서의 기준에 따라 구분하여 평가하였으며, 전체적인 유착의 크기를 측정하여 평가하였다. 유착의 평가 시에는 평가자가 실험군을 알 수 없도록 하여 객관성을 높일 수 있도록 하였다.

다. 통계학적 처리

유착정도, 세기 및 면적의 측정값은 평균값과 이의 표준편차로 표시하였다. 대조군과 실험군 간의 측정값에 대한 비교에는 Wilcoxon rank sum test와 student t-test를 이용하였고 실험군 간의 비교에는 ANOVA test를 이용하였다. p 값은 0.05 이하인 경우를 통계적인 유의성이 있는 것으로 정의하였다.

III. 결 과

본 연구기간 동안 수술 후 유착의 발생에 의해 사망한 동물은 없었다. 대조군에서 개복 후 육안 소견 상 장벽과 복벽의 횡문근 사이에 섬유성 결합조직이 증식되어 있었고 미약한 염증 세포의 침윤과 교원질의 침착으로 두 조직이 서로 단단한 유착을 형성하고 있었다.

1. 대조군과 실험군 간의 유착방지효과

표 3에서 대조군과 실험군에 대한 몸무게의 변화, 유착의 정도, 유착의 세기 및 유착의 면적들의 평균값과 표준편차를 수치로 요약하였다.

표 3. 각각의 군 간의 유착형성의 평가결과

비교군 ¹	실험동물수	몸무게 변화 ²	유착 정도 ³	유착 세기 ³	유착 면적 ⁴
대조군	40	11.0±20.1	4.8±0.5	3.8±0.5	2.1±1.3
용액형	29	7.4±21.1	3.4±1.0*	2.4±0.8*	1.0±0.6*
분말형	19	4.8±19.5	2.7±0.9*	1.9±0.8*	0.8±0.3*
스폰지형	11	1.3±18.8	2.6±0.5*	1.6±0.5*	1.0±0.3*
필름형	8	3.1±22.3	3.0±1.1*	2.3±0.9*	0.8±0.4*

* 대조군에 비하여 $p<0.05$ (Wilcoxon Rank Sum test)

¹ 4주령의 암컷 쥐(Sprague Dawley)를 대조군과 네 가지의 실험군으로 나누고 장벽과 복벽 사이에 인위적인 손상을 주어 유착을 유발시킨 뒤 실험군에서는 유착방지제를 투여하고 2주후에 개복하여 유착형성을 평가하였다.

² 단위는 g이고 그 값은 평균±표준편차로 나타냄.

³ 값은 평균±표준편차로 나타냄.

⁴ 단위는 cm^2 이고 그 값은 평균±표준편차로 나타냄.

실험기간동안 실험동물의 몸무게의 변화는 모든 군에서 증가하였으며 대조군과 실험군 간의 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. 유착의 정도는 대조군에서 대부분 4 또는 5였으며 실험군에서는 2 또는 3으로 통계학적으로 유의한 감소를 보였다. 또한 유착의 세기는 대조군에서 3 또는 4였으며 실험군에서는 2정도로 통계학적으로 유의하게 감소하였다. 유착의 면적은 대조군에서 평균 2.1cm^2 였으며 실험군에서

평균 0.9cm^2 로 감소되어 통계학적으로 유의한 감소를 보였다.

2. 실험군 간의 유착방지효과

네 가지 형태별 실험군에서 유착의 정도는 분말형과 스폰지형에서 각각 평균 2.7과 2.6으로 다른 두 군에 비해서 통계학적으로 유의한 감소를 보였다(표 4).

표 4. 네 가지 실험군 간의 유착의 정도평가

비교군 ¹	Duncan grouping ²	유착 정도의 평균
용액형	A,B	3.4
분말형	B,C	2.7
스폰지형	C	2.6
필름형	A,B,C	3.0

¹ 4주령의 암컷 쥐(Sprague Dawley)를 네 가지의 실험군으로 나누고 장벽과 복벽사이에 인위적인 손상을 주어 유착을 유발시킨 뒤 각각의 제조된 유착방지제를 투여하고 2주후에 개복하여 유착형성을 평가하였다.

² ANOVA test를 사용하여 통계처리한 결과임.

유착의 세기에 있어서도 분말형과 스폰지형에서 각각 평균 1.9와 1.6으로 다른 두 군에 비해서 통계학적으로 유의한 감소를 보였다(표 5).

표 5. 네 가지 실험군 간의 유착의 세기평가

비교군 ¹	Duncan grouping ²	유착 세기의 평균
용액형	A,B	2.4
분말형	B,C	1.9
스폰지형	C	1.6
필름형	A,B	2.3

¹ 4주령의 암컷 쥐(Sprague Dawley)를 네 가지의 실험군으로 나누고 장벽과 복벽사이에 인위적인 손상을 주어 유착을 유발시킨 뒤 각각의 제조된 유착방지제를 투여하고 2주후에 개복하여 유착형성을 평가하였다.

² ANOVA test를 사용하여 통계처리한 결과임.

유착의 면적은 네 실험군 간에 통계학적으로 유의한 차이가 없었다 (표 6).

표 6. 네 가지 실험군 간의 유착의 면적평가

비교군 ¹	Duncan grouping ²	유착 면적의 평균
용액형	A	1.0
분말형	A	0.8
스폰지형	A	1.0
필름형	A	0.9

¹ 4주령의 암컷 쥐(Sprague Dawley)를 네 가지의 실험군으로 나누고 장벽과 복벽사이에 인위적인 손상을 주어 유착을 유발시킨 뒤 각각의 제조된 유착방지제를 투여하고 2주후에 개복하여 유착형성을 평가하였다.

² ANOVA test를 사용하여 통계처리한 결과임.

IV. 고 찰

유착은 어느 특정 장기 혹은 조직에 주변의 장기 혹은 조직이 달라 붙는 현상을 의미하는 것으로, 수술 후 유착은 거의 모든 수술 후에 발생할 수 있으며, 심각한 합병증을 유발할 수 있다. 복부 및 부인과 수술 후의 유착은 장폐색, 동통, 불임 등을 일으킬 수 있으며, 이러한 합병증은 시간적 및 금전적 소요를 필요로 할 뿐 아니라 더 심각한 합병증을 일으킬 수 있는 이차적인 수술이 필요할 수도 있다. 그러므로, 유착방지는 수술을 필요로 하는 진료에서는 중요한 목표이다.

유착 발생에 가장 강력한 자극이 되는 것은 복강의 외상이다. 동물 연구에서 허혈성 소장의 문합에서 허혈은 강력한 유착 자극으로 알려져 있다.¹⁴ 유착을 일으키는 다른 원인으로는 외과 수술 장갑의 magnesium silicate(talc)과 starch 같은 이물질도 포함된다. 수술거즈의 부스러기 역시 유착을 일으킬 수 있으며, 아마도 이것은 복막 중피세포(mesothelial cell)의 박리를 야기하는 silica를 함유하고 있기 때문으로 보고되었다.¹⁵ 일반적으로 유착 형성을 자극하는 것은 복막 외상, 허혈과 이물질이라 알려져 있다. 유착형성 과정은 복잡하며 fibrinolytic mechanism의 부재, 변형과 염증성 세포, 중피세포, 섬유모세포(fibroblast) 등 다양한 세포의 증식과 이동을 포함한다. 또한 세포외 기질의 합성과 침착 등도 포함된다. Transforming growth factor는 수술 후 복강 유착을 일으키는 데 중요한 역할을 하는 것으로 보고된 바 있다.¹⁶ 유착형성은 손상 조직에 대한 염증반응에 의해 시작되는데, 이 반응은 피브린이 풍부하고, 화학적 중간체(예를 들어 prostaglandin, lymphokine, chemotactic agents, bradykinin, serotonin, histamine, tissue thromboplastin)로 구성된 serous exudate를 방출한다. 이 피브린형 응집물은 초기 상처발생 후 3시간 정도부터 주변 복강 내 장기 사이에 피브린형 유착으로 발전하게 된다.¹⁷ Fibrin matrix를 제거하기 위해서는 fibrinolysis가 요구된다. 따라서 피브린 침착과 분해 사이의 균형이 유착형성을 일으키는 중요한 결정인자인 것으로 여겨지고 있다.¹⁸ 손상되지 않은 복강 중피세포에

서 피브린 분해제는 tissue plasminogen activator(tPA)로 확인되었고,¹⁹ 이는 외상 후 감소된다.²⁰ tPA level의 감소와 더불어 수술동안의 조직손상 또한 fibrinolysis를 더욱 방해하는 plasminogen activator inhibitor의 level을 증가시킨다. 복막 상처로 인해 피브린 분해활동의 억제가 연장되면 영구적인 유착이 형성된다.²¹ 1-3일째에 유착은 fibrin matrix에 의해 이루어지며, 여기에는 다양한 세포 성분이 포획되어 구성된다. 이 매트릭스는 점차적으로 macrophage, fibroblast, giant cell를 포함한 육아 조직에 의해 교체된다. 초기에는 유착의 표면에 중피세포가 부착하는 증거가 없지만, 4일까지는 대부분의 fibrin이 사라지고, 많은 수의 섬유모세포와 이와 연결된 collagen이 섬유성 유착 형태로 나타난다. 3일 후 macrophage는 주로 leukocyte이고 몇몇 fibroblast와 함께 fibrin mesh 위에 존재한다. 5일째에는 점차 조직화되고 collagen, fibroblast, mast cell을 포함하게 된다. 또한 내피세포를 포함하는 작은 혈관이 나타난다. 5-10일 동안에는 섬유모세포가 유착 내에서 배양되고, 한편으로는 collagen의 침착과 조직화가 진행된다. 2주째에는 비교적 적은 세포들이 존재하고, 이들은 주로 fibroblast이다. 상처 발생 후 1-2 달째엔 collagen섬유가 분리된 묽은 형태를 형성하고, 스핀들형 섬유모세포와 매우 소량의 macrophage가 존재한다. 사실상 유착은 fibrous band로 성숙되고, 때때로 이는 작은 calcification nodule을 포함한다. 광범위하고 잘 형성된 유착은 때로는 중피에 의해 덮여지고, 혈관과 결합조직 섬유들을 포함하며, 여기에는 elastin이 포함된다.²²

이러한 유착기전에 근거하여 유착을 방지하기 위해서 몇 가지 방법이 제안되었다. 첫째로 수술시 복막의 손상을 최소화하는 것으로 이는 유착을 발생시키는 염증반응이 시작되는 것을 막아주는 것이다. 그러나 이 조건은 현실적으로 외과수술의 성격상 아무리 조심스레 수행한다하더라도 조직과 장기의 구조에 외상을 가져올 수밖에 없기 때문에 현실적으로 어려움과 제한이 있다. Talc/starch없는 장갑, 부스러기가 일어나지 않는 면, 그리고 정밀하고 이물반응이 적은 봉합사를 사용함으로써 외과수술 후의 유착발생 위험을 줄일 수 있다. Ellis 등¹⁵에 따르면 원래의 장막면은 열린 상태로 두고 혈관접합이 있는 유착

이 형성될 것 같은 부위에 omentum, broad ligament, falciform ligament, peritoneal flap 등을 덮도록 하였다. 또한 세척이나 코팅용액을 사용하여 탈수를 예방하고 조작시 생기는 손상을 줄일 수 있다는 보고도 있다.²³

둘째로 염증과 유착 형성을 포함한 생화학적 과정을 조절하기 위해 약물치료를 들 수 있다. corticosteroid는 피브린 침착, 모세혈관과 섬유모세포의 증식, 콜라겐 침착을 억제하므로 corticosteroid를 복강 내 유착 형성의 실험모델에서 사용한 결과, 효과가 없는 것으로 나타났다.²⁴ Jansen 등²⁵에 의하면 골반수술을 받는 여성에서 유착형성을 방지하기 위하여 복강 내 및 전신적인 corticosteroid를 조합하여 투여한 결과 오히려 유의하게 악화된 결과를 보고하였다. 이러한 결과는 복막 상처로 야기된 매우 강력한 염증 반응을 억제하기 위해서는 상당히 많은 양의 steroid가 필요하지만 이는 면역억제를 일으키고 창상치유를 감소시킬 수 있기 때문에 이들의 사용을 제한해야 한다고 하였다.

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs(NSAID)는 arachidonic acid의 대사산물을 변화시키는데 arachidonic acid의 대사산물인 prostagladin과 thromboxane의 생산을 변화시켜 염증반응을 억제한다.²² 일부 연구에서 전신적 NSAID투여로 동물모델에서 유착형성을 감소시키는데 효과적이었으나,^{26,27} 다른 연구에서는 그렇지 못 했다.²⁸ Anticoagulant인 heparin은 피브린 침착을 감소시킬 수 있으나 Jansen 등²⁹의 연구에 의하면 골반 수술을 시행받은 92명의 여성에게 heparin 500U/L을 세척액에 첨가하여 세척하였으나 유착방지에 효과적이지 못 했다고 보고하였다.

셋째로 Fibrinolytic agent를 사용하여 fibrinolysis를 유발하는 방법이 있다. Hellebrekers 등³¹은 유착방지제로 fibrinolysin, streptokinase, urokinase 같은 plaminogen activator를 사용하여 유착 방지 효과가 있었다고 보고하였다. 최근에 Menzies 등³¹은 recombinant tPA를 복강 손상 후 토끼에서 사용하여 초기 혹은 재발한 유착을 성공적으로 예방하였다고 보고하였다.

마지막으로 물리적인 장벽을 들 수 있다.³² 물리적 장벽은 대략 7일

간의 중피의 재생이 일어나는 기간동안 상처 면을 주변조직과 분리시켜 유착을 방지하게 된다. 이상적인 물리적 장벽은 유착방지에 효과적이어야 할 뿐만 아니라, 생체 내에 삽입하므로 장벽 자체와 그 분해산물이 안전성을 지녀야 한다. 즉 안전성, 효율성, 흡수성, 비염증성, 사용 및 투여 용이성, 창상치유와의 적합성, 조직에 대한 부착성, 약물 방출성 등이 우수하여야 한다. 특히 안전성이 중요하여 이를 위해서는 비세포독성, 비자극성, 비용혈성, 비유전독성, 비독성, 비발열성 등의 특성이 요구된다. Omentum, amnion 같은 대부분의 자연적인 장벽은 유착을 방지하기 보다는 오히려 유착을 유발하는 결과를 나타내었다.²¹ 이러한 결과에 따라서 인공장벽이 개발되었는데 reformulated oxidized-regenerated cellulose(ORC)와 expanded polytetrafluoroethylene(PTFE)가 있다. Reformulated ORC의 경우 동물실험에서는 효과적이지 못했고 실제로 유착이 일어나는 결과를 보였다.³³ 산부인과 수술에 대한 여러 임상 연구에서 reformulated ORC를 사용하여 술후 유착 발생율이 감소됨이 보고되었다.^{34,35,36} 그러나 reformulated ORC는 투여 전에 미세수술과 함께 완전한 지혈이 이루어져야한 효과가 있었으며 산부인과 골반수술에만 적용되어 다른 수술의 경우에는 안전성 및 유효성이 입증되지 않았다.

Expanded PTFE는 화학적 활성이 없는 0.1mm 두께의 쉬트 형태로 세포의 침투를 지연시킨다. 일부 연구에서 expanded PTFE가 산부인과 수술 후 유착 형성을 감소시키는 것으로 보고되었다.³⁷ 비록 expanded PTFE가 조직을 분리하는데 효과적인 장벽이라 할지라도 봉합되어져야 하며 생체흡수가 되지 않는 문제가 있다.

액상 장벽으로 dextran-70, lactated Ringer solution이 사용되었으나 이들은 생체흡수가 빨라 충분한 기간동안 유착방지면에 잔존하지 못 함으로써 효과적이지 않았다.²² 액상 장벽의 일종인 sodium hyaluronate를 사용하여 유착 방지에 효과적이었다는 여러 보고가 있었다.^{38,39,40,41,42} Hyaluronic acid(HA)는 결합조직에서 발견되는 음이온성 다당류의 일종으로써 D-glucuronic acid와 N-acetyl-D-glucosamine으로 이루어져 있다. HA는 생체 고분자로 활액이나 유리 체액, 세포외기질 등의 구성물질이므로 생체적합성과 생체흡수성이

우수하며 hyaluronidase에 의해 분해된 후 흡수되어 제거되므로 상처의 치유기간 동안 물리적 장벽역할을 유지하기 위해 충분한 분자량을 가지고 있어야 한다. Precoating agent로서 HA의 나트륨염인 sodium hyaluronate를 가지고 전 임상 연구가 수행되었는 바, 하부 직장에 대한 수술을 시행받는 환자를 대상으로 한 무작위 연구에서 hyaluronic acid를 이용한 유착방지제를 사용하여 유착 형성을 감소시킬 수 있는 지 확인한 결과 대조군에 비해 유착형성이 적었음을 보고하였다.¹¹ 국내에서는 심 등¹²이 동물실험에서 sodium alginate, sodium carboxymethyl cellulose, polyethylene glycol-polypropylene glycol, polyethylene glycol, sodium hyaluronate를 사용하여 유착방지 효과를 연구한 결과 sodium alginate, sodium carboxymethyl cellulose 및 sodium hyaluronate에서 유착방지가 우수하였으며 특히 sodium hyaluronate에서 염증반응이 가장 적었다고 보고하였다.

이에 본 연구에서는 sodium hyaluronate를 가장 적절한 유착방지제로 선택하였으며 물리적 장벽으로써의 역할을 가장 잘 수행할 수 있는 재료의 형태가 무엇인지에 대한 연구를 시행한 결과 형태별 실험군 모두에서 유착형성 유발시 아무런 처치도 하지 않은 대조군에 비해서 유착방지효과가 통계학적으로 유의하게 우수함을 확인하였다. 이는 앞서 진행된 여러 연구에서처럼 HA의 우수한 유착방지효과를 입증한 것이라 할 수 있다.

네 가지 형태별로 제조한 HA에 대한 유착방지효과는 분말형과 스폰지형에서 가장 우수한 것으로 나타났다. 반면 용액형이 유착방지효과가 가장 적었던 것으로 나타났는데 이는 용액형의 경우 동량의 HA를 사용해도 용액의 특성상 한 부위에 일정 기간 동안 잔류할 수 없으며 용액의 경우 생체 내로 급속히 흡수되었기 때문이라 사료된다. 또한 필름형의 경우는 잘 부스러지는 특성으로 인해 사용상 조작의 어려움이 있어 원하는 부위에 정확한 투여가 어려웠다. 따라서 같은 물리적 장벽용의 유착방지제를 사용해도 그 형태에 따라 유착방지를 위한 투여장소에 유착방지제를 원하는 기간동안 잔류할 수 있게 하느냐가 유착방지에 중요한 요인이며 사용자가 조작하기가 용이한 형태 또한 중요하다고 할 수 있겠다.

앞으로도 우수한 유착방지제를 개발하는데 역점을 두어야 함과 동시에 유착방지효과에 영향을 줄 수 있는 다른 요소들에 대한 추가 연구가 지속되어야 하며 이를 바탕으로 이상적인 유착방지제를 개발할 수 있으리라 기대된다.

V. 결 론

유착방지제로서 유착방지효과가 우수하며 생체 독성에 대한 연구가 진행된 sodium hyaluronate를 용액형, 분말형, 스폰지형 및 필름형의 네 가지 형태로 제조하여 각각의 형태에 따른 유착 방지 효과를 평가하고자 실험 동물로 Sprague-Dawley rat를 이용하여 장벽과 복벽 사이에 인위적인 손상을 가하여 유착 형성을 유발하고 여기에 각각의 형태별로 제조된 유착방지제를 투여하여 유착 형성의 정도와 세기를 측정한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 각각의 형태별 실험군 모두 대조군에 비해서 유착의 정도와 유착의 세기에 있어서 통계학적으로 유의한 감소를 보였다.
2. 네 가지 형태별 실험군 중 분말형과 스폰지형이 다른 두 형태의 유착방지제에 비해서 유착의 정도와 유착의 세기에 있어서 통계학적으로 유의한 감소가 있었다.

유착 발생 과정에 대한 현재의 이해만으로도 논리적으로 유착 방지 방법을 충분히 제안할 수 있으나 손상된 조직의 치유와 그 이후에 일어나는 유착의 형성에 대해 완전히 이해하기 위해서는 더 심도있는 연구가 요구된다. 이러한 정보는 유착형성이 다양한 임상 상태에 따라 다른지, 그리고 왜 다른 환자에게서 생기지 않고 몇몇 환자에게서는 유착으로 발전하는지를 결정하는데 도움이 될 수 있다.

앞으로도 우수한 유착방지제를 개발하는데 역점을 두어야 함과 동시에 유착방지효과에 영향을 줄 수 있는 다른 요소들에 대한 추가 연구가 지속되어야 하며 이를 바탕으로 이상적인 유착방지제를 개발할 수 있으리라 기대된다.

참고문헌

1. Ray NF, Larsen JW Jr, Stillman RJ, Jacobs RJ. Economic impact of hospitalizations for lower abdominal adhesiolysis in the United States in 1988. *Surg Gynecol Obstet* 1993;176(3): 271-276.
2. Ray NF, Denton WG, Thamer M, Henderson SC, Perry S. Abdominal adhesiolysis: inpatient care and expenditures in the U.S. in 1994. *J Am Coll Surg* 1998;186(1):1-9.
3. Van Der Krabben AA, Dijkstra FR, Nieuwenhuijzen M, Reijnen MM, Schaapveld M, Van Goor H. Morbidity and mortality of inadvertent enterotomy during an adhesiotomy. *Br J Surg* 2000;87(4):467-471.
4. Chung JH, Cosenza MJ, Rahbar R, Metson RB. Mitomycin C for the prevention of adhesion formation after endoscopic sinus surgery: a randomized, controlled study. *Otolarygol Head Neck Surg* 2002;126(5):468-474.
5. Ramadan HH. Surgical causes of failure in endoscopic sinus surgery. *Laryngoscope* 1999;109(1):27-29.
6. March CM. Intrauterine adhesions. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1995;22(3):491-505.
7. Falk K, Bjorquist P, Stromqvist M, Holmdahl L. Reduction of experimental adhesion formation by inhibition of plasminogen activator inhibitor type 1. *Br J Surg* 2001;88(2):286-289.
8. Burns JW, Colt MJ, Burgees LS, Skinner KC. Preclinical evaluation of Seprafilm bioresorbable membrane. *Eur J Surg* 1997;163 Suppl 577:40-48.
9. Elkins TE, Ling FW, Ahokas RA, Abdella TN, Homsey CA, Malinak LR. Adhesion prevention by solutions of sodium carboxymethylcellulose in the rat. II. *Fertil Steril* 1984;41(6):929-932.

10. Fredericks CM, Kotry I, Holtz G, Askalani AH, Serour GI. Adhesion prevention in the rabbit with sodium carboxymethylcellulose solutions. *Am J Obstet Gynecol* 1986;155(3):667-670.
11. Vrijland WW, Tseng LN, Eijkman HJ, Hpo WC, Jakimowicz JJ, Leguit P. Fewer intraperitoneal adhesions with use of hyaluronic acid-carboxymethylcellulose membrane: a randomized clinical trial. *Ann Surg* 2002;235(2):193-199.
12. Shim HS, Lee YW, Lee YM, Oh YH, Kwon SW, Kim JH, et al. Evaluation of resorbable materials for preventing surgical adhesion on rat experiment. *J Korean Surg Soc* 2002; 63(3):179-186.
13. Vlahos A, Yu P, Lucas CE, Ledgerwood AM. Effect of a composite membrane of chitosan and poloxamer gel on postoperative adhesive interactions. *Am Surg* 2001;67(1):15-21.
14. Oncel M, Remzi FH, Senagore AJ, Connor JT, Fazio VW. Liquid antiadhesive product (Adcon-p) prevents post-operative adhesions within the intra-abdominal organs in a rat model. *Int J Colorectal Dis* 2003;18(6):514-517.
15. Ellis H. The cause and prevention of postoperative intraperitoneal adhesions. *Surg Gynecol Obstet* 1971;133(3):497-511.
16. Chegini N, Simms J, Williams RS, Masterson BJ. Identification of epidermal growth factor, transforming growth factor- α , and epidermal growth factor receptor in surgically induced pelvic adhesion in the rat and intraperitoneal adhesions in the human. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171(2):321-328.
17. Yagmurlu A, Barlas M, Gursel I, Gokcora IH. Reduction of surgery-induced peritoneal adhesions by continuous release of streptokinase from a drug delivery system. *Eur Surg Res* 2003;35(1):46-49.
18. Holmdahl L. The role of fibrinolysis in adhesion formation. *Eur*

- J Surg 1997;163 Suppl 577:24-31.
19. Van Goor H, de Graaf JS, Grond J, Sluiter WJ, van der Meer J, Bom VJ, et al. Fibrinolytic activity in the abdominal cavity of rats with faecal peritonitis. Br J Surg 1994;81(7):1046-1049.
 20. Merlo G, Fausone G, Castagna B. Fibrinolytic activity of mesothelial lining of the displaced peritoneum. Am J Med Sci 1983;286(2):12-14.
 21. Pijlman BM, Dorr PJ, Brommer EJ, Vemer HM. Prevention of adhesions: review. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1994;53(3):155-163.
 22. DiZerega GS. Contemporary adhesion prevention. Fertil Steril 1994;61(2):219-235.
 23. Yaacobi Y, Israel AA, Goldberg EP. Prevention of postoperative abdominal adhesions by tissue precoating with polymer solutions. J Surg Res 1993;55(4):422-426.
 24. DiZerega GS, Hodger GD. Prevention of postoperative tubal adhesions: comparative study of commonly used agents. Am J Obstet Gynecol 1980;136(2):173-178.
 25. Jansen RP. Failure of intraperitoneal adjuncts to improve the outcome of pelvic operations in young women. Am J Obstet Gynecol 1985;153(4):363-371.
 26. LeGrand EK, Rodgers KE, Girgis W, Campeau JD, diZerega GS. Comparative efficacy of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and anti-thromboxane agents in a rabbit adhesion-prevention model. J Invest Surg 1995;8(3):187-194.
 27. Rodgers K, Girgis W, diZerega GS, Bracken K, Richer L. Inhibition of postsurgical adhesions by liposomes containing nonsteroidal antiinflammatory drugs. Int J Fertil 1990;35(5):315-320.
 28. Soper DE, Krebs S. Failure of anti-inflammatory agents to modulate infection-induced pelvic adhesive disease in rabbits. J Reprod Fertil 1987;79(2):517-521.

29. Jansen RP. Failure of peritoneal irrigation with heparin during pelvic operations upon young women to reduce adhesions. *Surg Gynecol Obstet* 1988;166(2):154-160.
30. Hellebrekers BW, Trimbos-Kemper TC, Trimbos JB, Emeis JJ, Kooistra T. Use of fibrinolytic agents in the prevention of postoperative adhesion formation. *Fertil Steril* 2000;74(2):203-212.
31. Menzies D, Ellis H. The role of plasminogen activator in adhesion prevention. *Surg Gynecol Obstet* 1991;172(5):362-366.
32. Harris ES, Morgan RF, Rodeheaver GT. Analysis of the kinetics of peritoneal adhesion formation in the rat and evaluation of potential antiadhesive agents. *Surgery* 1995;117(6):663-669.
33. Arora M, Jaroudi KA, Hamilton CJ, Dayel F. Controlled comparison of Interceed and amniotic membrane graft in the prevention of postoperative adhesions in the rabbit uterine horn model. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1994;55(3):179-182.
34. Interceed(TC7) Adhesion Barrier Study Group. Prevention of postsurgical adhesions by Interceed(TC7), an absorbable adhesion barrier: a prospective randomized multicenter clinical study. *Fertil Steril* 1989;51(6):933-938.
35. Sekiba K, the Obstetrics and Gynecology Adhesion Prevention Committee. Use of Interceed(TC7) absorbable adhesion barrier to reduce postoperative adhesion reformation in infertility and endometriosis surgery. *Obstet Gynecol* 1992;79(4):518-522.
36. Nordic Adhesion Prevention Study Group. The efficacy of Interceed(TC7) for prevention of reformation of postoperative adhesions on ovaries, fallopian tubes, and fimbriae in microsurgical operations for fertility: a multicenter study. *Fertil Steril* 1995;63(4):709-714.
37. The Myomectomy Adhesion Multicenter Study Group. An expanded polytetrafluoroethylene barrier (Gore-Tex Surgical Membrane) reduces post-myomectomy adhesion formation.

- Fertil Steril 1995;63(3):491-493.
38. Becker JM, Dayton MT, Fazio VW, Beck DE, Stryker SJ, Wexner SD, et al. Prevention of postoperative abdominal adhesions by a sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane: a prospective, randomized, double-blind multicenter study. J Am Coll Surg 1996;183(4):297-306.
 39. De Iaco PA, Stefanetti M, Pressato D, Piana S, Dona M, Pavesio A, et al. A novel hyaluronan-based gel in laparoscopic adhesion prevention: preclinical evaluation in an animal model Fertil Steril 1998;69(2):318-323.
 40. Ghellai AM, Stucchi AF, Lynch DF, Skinner KC, Colt MJ, Becker JM. Role of a hyaluronate-based membrane in the prevention of peritonitis-induced adhesions. J Gastrointest Surg 2000;4(3):310-315.
 41. Greenawalt KE, Butler TJ, Rowe EA, Finneral AC, Garlick DS, Burns JW. Evaluation of sepramesh biosurgical composite in a rabbit hernia repair model. J Surg Res 2000;94(2):92-98.
 42. Burns JW, Skinner K, Colt J, Sheidlin A, Bronson R, Yaacobi Y, et al. Prevention of tissue injury and postsurgical adhesions by precoating tissues with hyaluronic acid solutions. J Surg Res 1995;59(6):644-652.

Abstract

Evaluation of Potential Antiadhesive Agent, Sodium Hyaluronate (HA), According to Forms of Material in Rats

Chang Mok Lee

*Department of Medicine
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Seung Kook Sohn)

Postoperative adhesions can occur after all types of operations, resulting in serious clinical complications. A variety of approaches have been investigated for prevention of postoperative adhesions. Of them, sodium hyaluronate (HA) as a physical barrier appeared to be the best candidate for prevention of postoperative adhesions. HA can be formulated in four types, solution, powder, sponge, and film, and this study was designed to evaluate which form of HA is most effective as an antiadhesive agent. Four-week-old female Sprague-Dawley rats (Sam: TacN(SD)BR, Samtako Co., Seoul, Korea) were used. A 2-cm² area of the cecal serosa and adjacent peritoneal wall were abraded with a bone burr, and the two injured surfaces were attached together by using 3-point sutures coated with one of the four forms (0.5% solution, 0.03 g of powder, 2 cm² of sponge, and film) of HA (experimental groups, n=67) or without any HA (control group, n=40). The degree (0-5 grades), the strength (1-4 grades), and the area (cm²) of adhesion were assessed 14 days after the operation. There was no operative mortality and no postoperative weight loss. The grades of adhesion

degree and strength were higher in the control group (mean 4.8 and 3.8) than in any of the four experimental groups ($p < 0.05$). Among the four experimental groups, the grades of adhesion degree and strength were lower in the powder and the sponge groups than in the other two groups. There was no statistical significance associated with the differences in the sizes of the adhesion area. The coating with four forms of HA can reduce postoperative adhesion formation. Among the four forms, the powder type and the sponge type of HA showed better antiadhesive effects than the solution type or the film type.

Key Words : antiadhesive agent, sodium hyaluronate