Original Articles Korean Circulation J 1999;29(5):498-506

국산 헤파린 부착 스텐트의 돼지 관상동맥 스텐트 재협착에 대한 효과

전남대학교병원 심장센타,[1] 연세대학교 심혈관센타,[2] 광주보훈병원 내과,[3]
전남대학교 공과대학 응용화학공학부,[4] 전남대학교병원 해부병리과,[5] 전남대학교 의과학연구소[6]
박형욱[1] · 정명호[1,6] · 장양수[2] · 김용록[3] · 김 완[3] · 박우석[1]
김남호[1] · 김준우[1] · 김성희[1] · 조장현[1] · 안영근[1] · 조정관[1,6]
조동련[4] · 김현진[4] · 박종춘[1,6] · 이재혁[5] · 박창수[5] · 강정채[1,6]

The Effects of the Heparin-Coated Maximum Arterial Re-Creation (MAC) Stent on Porcine Coronary Stent Restenosis

Hyung Wook Park, MD[1], Myung Ho Jeong, MD[1,6], Yang Soo Jang, MD[2], Yong Rok Kim, MD[3], Wan Kim, MD[3], Woo Suck Park, MD[1], Nam Ho Kim, MD[1], Joon Woo Kim, MD[1], Sung Hee Kim, MD[1], Jang Hyun Cho, MD[1], Young Keun Ahn, MD[1], Jung Gwan Cho, MD[1,6], Dong Lyun Cho, PhD[4], Hyun Jin Kim, BS[4], Jong Chun Park, MD[1,6], Jae Hyuck Lee, MD[5], Chang Soo Park, MD[5] and Jung Chaee Kang, MD[1,6]

[1]Heart Center of Chonnam University Hospital, [2]Cardiovascular Center of Yonsei University Hospital, [3]Veterans Hospital of Kwangju, [4]Faculty of Applied Chemial Engineering of Chonnam National University, [5]Department of Anatomic Pathology of Chonnam University Hospital, Research Institute of Medical Sciences, [6]Chonnam National University, Kwangju, Korea

ABSTRACT

Background: Stent thrombosis and late restenosis are still major limitations in the clinical use of coronary stenting. Heparin-coated stent may reduce the incidences of stent thrombosis and restenosis. Heparin-coated stents were compared with control stents in a porcine coronary stent restenosis model in order to evaluate the effects of heparin-coated stent on stent restenosis. **Methods**: Heparin was coated on a stent by deposition of an ultra-thin polymeric film containing amine groups by means of plasma polymerization. And then stent was immersed in heparin solution. Stent overdilation injury (stent : artery=1.3 : 1.0) was performed with bare (Group Ⅰ, n=4) and heparin-coated (Group Ⅱ, n=5) MAC stents in porcine coronary arteries. Follow-up quantitative coronary angiography (QCA) was performed at 4 weeks after stenting. The histopathologic assessments of stented porcine coronary arteries were compared in between 2 groups. **Results**: 1) Luminal area of stented artery was 7.05±1.25 mm^2 in Group Ⅰ and 7.67±2.85 mm^2 in Group Ⅱ, which were not different between two Groups. 2) Histopathologic stenosis of Group Ⅰ was 35.7±13.2%, which was higher than 28.6±14.7% of Group Ⅱ ($p<0.05$). Ratio of neointima/media was 1.16±0.52 in Group Ⅰ and 0.87±0.31 in Group Ⅱ and neointimal area was higher in Group Ⅰ than in Group Ⅱ (3.81±1.78 mm^2 vs. 2.82

논문접수일 : 1998년 12월 14일
심사완료일 : 1999년 5월 7일
교신저자 : 정명호, 501 - 757 광주광역시 동구 학1동 8번지 전남대학교병원 심장센터
전화 : (062) 220 - 6243 · 전송 : (062) 228 - 7174
E - mail : myungho@chollian.net

±1.11 mm^2, $p<0.05$ respectively). 3) PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) index of Group Ⅰ was 10.0±2.2%, which was higher than in Group Ⅱ (6.8±4.0%). **Conclusions**: Heparin-coated MAC stent may be effective in the inhibition of neointimal proliferation in a porcine stent restenosis model. **(Korean Circulation J 1999;29(5):498-506)**

KEY WORDS: Heparin-coated stent · Stent Restenosis.

서 론

최근 국내에서도 관상동맥 질환이 급속히 증가하였고 동맥경화증에 의한 성인 사망이 증가하고 있다.[1] 관상동맥 질환의 치료 방법으로는 과거에는 관상동맥 우회술과 같은 수술 요법을 주로 시행하였으나, 최근에는 관상동맥 중재술을 이용하여 치료하고 있다.[2] 70세 이상의 고령 환자를 포함한 많은 예의 관상동맥 중재술을 시술하여 95%의 좋은 성공률을 보이고 있으나,[3][4] 관상동맥 중재술 후에 발생할 수 있는 내막 박리, 혈전의 형성, 혈관 수축 등과 같은 급성 합병증과 재협착 등의 만성 합병증이 임상적 문제점으로 제기되고 있어,[5][6] 국소 약물 전달 요법,[7-10] 국소 방사성 요법,[11][12] 유전자 요법[13-15] 등의 새로운 시도가 이루어지고 있다.

관상동맥 중재술의 새로운 시술기구의 하나인 관상동맥 스텐트의 도입으로 관상동맥 풍선 확장술후 발생하던 급성 합병증은 10 15%에서 1%이하로 감소되었으나, 스텐트 재협착율은 20 30%로서 풍선확장술의 재협착율 30 50%에 비해서 낮지만 아직도 비교적 높은 편으로서 해결되어야 할 문제점들이 남아 있다.[16-19] 스텐트 재협착은 스텐트내 혈전과 신생내막의 형성에 의해 발생한다고 알려지고 있어서 혈전 및 신생내막 생성 억제를 위한 많은 노력이 이루어지고 있다.[6][8][20]

관상동맥 스텐트는 고가로서 현재까지 전체 외국에서 수입하여 임상에서 이용되고 있어서 국내 개발 요구가 있었으며, 국내 연구진에 의해 개발된 맥(脈: Maximum Arterial Re-Creation Stent) 스텐트의 효과에 대하여 돼지 관상동맥 모형을 이용하여 보고한 바 있다.[21] 스텐트내에 혈전 형성 및 신생내막 증식에 대한 헤파린 부착 스텐트의 효과를 알아보기 위하여, 고분자 플라즈마 공법에 의하여 헤파린을 부착시킨 맥 스텐트의 스텐트 재협착 예방에 대한 효과를 동물모형을 이용하여 알아보았다.

대상 및 방법

실험동물

동물 실험은 임상연구소 윤리위원회의 허가를 받아 실시하였으며, 실험용 동물은 순종 돼지 중 25 내지 35 Kg의 암돼지를 실험 3일전에 공급받아 의과대학 연구소에서 관찰한 후 실험을 실시하였다. 동물 사육사는 항온, 항습 시설이 갖추어진 곳으로서, 사료 및 수돗물을 공급하였다. 실험 종료 후에는 의과대학 연구소의 동물 사육사에서 4주간 관찰한 후에 추적 관상 동맥 조영술을 시행하고 희생시켜 심장을 적출한 다음, 관상동맥 병변에 대한 병리 조직학적 검사를 실시하였다.

실험 방법

돼지를 하루 100 mg의 aspirin과 250 mg의 ticlopidine으로 전처치하였으며, 관상동맥 손상 모형은 Jeong과 Schwartz가 개발한 방법을 이용하였다.[22-25] 실험 돼지를 전날 밤부터 금식시킨 다음 Ketamine 12 mg/Kg와 Xylazine 8 mg/Kg을 근육 주사하여 전신 마취를 유도하였다. 무균 상태 하에서 2% lidocaine으로 목 중앙부에 국소마취를 실시한 후 돼지의 경동맥을 절개하여 8 French 동맥 sheath를 삽입하였다. Heparin sodium 10,000 Unit를 투여한 후 7 French 또는 8 French의 관상동맥 유도 도자를 C-arm(Phillips사 BV-25 Gold)의 투시 하에 관상동맥 개구부에 위치시켰다. 실험 진행 중에는 안면 산소 마스크를 이용하여 지속적으로 산소를 공급하였고, 귀의 정맥을 통하여 식염수를 공급하였으며 midazolam을 추가로 정주하여 마취 상태를 유지하였다.

관상동맥 손상은 대조 스텐트(control MAC stent, 한국 메디텍사 제공)와 헤파린 부착 스텐트(heparin-coated MAC stent, 공과대학 제조)를 이용하여 실시하였다. 대조 스텐트인 MAC stent는 풍선도자에 의해 확장되는 stainless steel stent이고, 헤파린 부착 스텐

트는 같은 형태의 MAC stent의 표면에 헤파린을 고분자 플라즈마 공법을 이용하여 공유결합의 형태로 부착시켜, 영구적으로 안정된 스텐트 표면을 형성하도록 하여 혈전 형성을 예방하고 스텐트에 대한 혈액 및 혈관벽 사이에 이물질 반응을 최소화시켰다. 관상동맥의 손상은 스텐트가 감겨져 있는 풍선도자로 stent to artery의 비율이 1.3 : 1이 되도록 standard indeflator를 이용하여 6 내지 8기압의 압력으로 30초간 풍선을 확장시켜 돼지의 관상동맥에 과확장 손상을 가하였다 (Fig. 1). 스텐트 시술은 대조 스텐트와 헤파린 부착 스텐트를 무작위로 좌전하행지 및 우관상동맥에 실시하였으며, 관상동맥의 크기가 직경 3 mm 이상인 혈관 부위에 시술하였다. 스텐트 시술 후에 돼지에게 헤파린이나 니트로 글리세린은 사용하지 않았다. 스텐트 시술 후 사용한 돼지의 경동맥을 결찰한 후 목의 피부를 봉합하였고, 의과학 연구소 동물 사육사에서 회복한 후 4주 동안 관찰하였다. 스텐트 시술 전후로 관상동맥 조영술을 Phillips사 C-arm BV 25 Gold를 이용하여 실시하여 비디오 녹화로 기록하였고, 저장된 영상에서 정량적 관상동맥 조영술에 대한 정량분석을 Cardio 500 (Kontron Inc.)을 이용하여 실시하였다.

병리 조직 검사는 스텐트 과확장 손상후 관상동맥 조영술을 실시하였고 4주후 성공적인 관상동맥 조영술을 실시할 수 있었던 대조 맥스텐트(n=4, Ⅰ군)와 헤파린 부착 맥스텐트(n=5, Ⅱ군)를 시술하였던 관상동맥 조직을 각 혈관당 5개의 절편으로 이루어 졌다. 스텐트 시술 4주 후에 같은 방법으로 추적 관상동맥 조영술을 실시하였고 비디오 녹화에 의한 기록과 정량분석을 시행하였다.

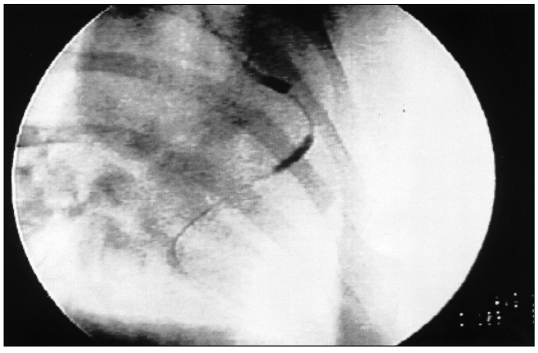

Fig. 1. Stent overdilation injury with MAC (Maximum Arterial Re-Creation) stent in a porcine coronary artery.

헤파린 부착 스텐트 제조 방법

헤파린 부착 스텐트는 저온 플라즈마 공정을 이용하여 스텐트의 표면에 헤파린과 친화성이 좋은 유기박막을 코팅한 다음 스텐트를 헤파린 용액에 담구어 헤파린을 부착하는 방법으로 제조하였다. 저온 플라스마 공정은 기체 또는 유기 증기를 저압상태에 있는 반응기에 주입하면서 전기적 방전을 이용하여 플라스마 상태로 전환시킬 때 생성되는 반응종들을 이용하여 고체의 표면을 개질시키는 공정으로서,[26-35] acrylic acid, diaminocyclohexane 등의 플라스마를 이용할 경우 고체의 표면에 고농도의 카르복실기 또는 아민기가 함유된 박막을 손쉽게 코팅할 수 있다.[28-31] 본 실험에서는 diaminocyclohexane 플라즈마로 스텐트의 표면을 처리하여 헤파린과 화학결합이 가능한 아민기를 함유한 박막을 코팅하였으며, 박막이 스텐트에 강하게 접착될 수 있도록 박막코팅 전에 스텐트를 초음파 세척기로 세척한 다음 산소 플라즈마로 다시 이물질을 제거하는 전처리 과정을 거쳤다.

산소 플라스마 처리 및 박막코팅에 사용한 플라스마 반응기는 내경 15 cm, 길이 30 cm 크기의 튜브형 RF 플라스마 반응기였으며, 스텐트를 반응기 중앙에 위치한 플레이트에 위치시키고 진공펌프를 이용하여 반응기의 내부압력을 0.01 torr 이하로 낮춘 다음 전처리 과정에서는 산소가스를 주입하여 압력이 0.1 0.5 torr가 되도록, 그리고 박막코팅 과정에서는 diaminocyclohexane 증기를 주입하여 압력이 0.25 torr가 되도록 하여 플라스마를 발생시켰다. 플라스마 발생을 위한 방전전력은 20와트, 처리시간은 5분이었다. 박막코팅이 끝난 후에는 반응기의 압력이 다시 0.01 torr 이하가 되도록 낮춘 다음 공기를 주입하여 스텐트를 꺼냈다. 이렇게 박막이 코팅된 스텐트는 25℃ 및 50℃의 헤파린 용액에 60분간 담구어 헤파린을 부착하였으며, 약하게 결합된 헤파린을 제거하기 위해서 deionized water에서 1분간 세척하였다. 박막의 두께는 Thickness Monitor를 이용하여 측정한 결과 25 Å 정도였으며, 부착된 헤파린의 두께는 무게변화와 표면적을 이용하여 계산한 결과 약 500 1,000 Å 정도이었다.

조직 병리학적 평가

추적 관상동맥 조영술을 시행 후 돼지는 potassium chloride 정맥주사로 희생시켰으며, 추출한 돼지의 심

장은 10% 중성 buffered formalin으로 perfusion fixation하였고 스텐트를 함유하고 있는 돼지의 관상동맥은 심장으로부터 제거한 후에 powerful light source를 이용한 투시에 의해 쉽게 증명하였고, 조직 절개시에 돼지 관상동맥 스텐트는 쉽게 촉지할 수 있었다. 관상 동맥 절편은 스텐트의 상·하부 1 cm 까지 제거하였고 stent filament는 혈관을 2 3 mm 간격으로 절단한 후 현미경 시야에서 혈관이 변형되거나 손상되지 않도록 제거하였다. 각 동맥의 분절의 절단편은 Hematoxylin-Eosin 염색과 Elastic Van Gieson's 염색과 신생내막의 증식을 비교하기 위하여 PCNA에 대한 면역조직화학법으로 염색을 실시하였다. 모든 조직 병리 측정 및 관찰은 병리학자와 함께 측정하였고 calibrated microscope(Leitz CBA 8000)를 이용하여 확립된 방법으로 측정하였다(Fig. 2). 각 내경의 단면부위는 calibrated digital microscopic planimetry로 측정하였으며, 스텐트 시술 혈관의 신생내막 두께, 중막 두께, 신생내막과 중막의 비율(neointima/media ratio=neointima area/media area), 내강 면적, 신생내막 면적, 내탄력층 면적(internal elastic lamina : IEL), 중막 면적, 외막 면적(external elastic lamina area) 등을 측정하였다. PCNA index는 혈관의 12시, 3시, 6시, 9시 방향의 신생내막에서 400배율하에 관찰되는 세포 중 PCNA 양성을 보이는 세포의 비로 하였다. 혈관벽의 손상지수는 IEL이 손상되지 않고 내피세포만 손상된 경우를 0, IEL이 손상되고 중막이 눌린 경우 1, IEL과 중막이 파괴된 경우 2, 중막과 EEL가 파괴된 경우를 3점이으로 하였다. 기준 혈관의 내경은 스텐트 상부와 하부 혈관의 내경의 평균값을 구하여 산출하였다. 신생내막 면적은 IEL 면적에서 내강 면적을 빼서 계산하였으며 중막 면적은 외막면적에서 내막 면적을 빼서 계산하였다. 스텐트 혈관의 협착 정도는 % area stenosis=100×(1-내강 면적/IEL 면적)으로 계산하였다(Fig. 2).

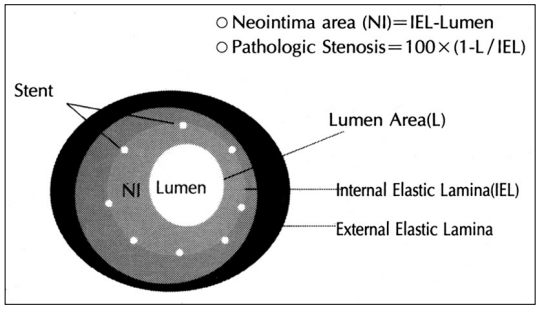

Fig. 2. Calculation methods of neointima and pathologic stenosis in a porcine stent restenosis model (internal elastic lamina area stent area).

통계 방법

모든 자료는 평균±표준편차로 나타내었다. 돼지의 관상동맥에서 대조 스텐트와 헤파린 부착 스텐트의 비교는 unpaired Student's t-test로 검증하였으며, p값이 0.05 미만인 경우를 유의하다고 판정하였다.

결 과

대조 스텐트를 이용하여 관상동맥에 맥스텐트 과확장 손상을 가한 군(Ⅰ군, n=4) 과 헤파린 부착 맥스텐트를 이용하여 과확장 손상을 가한 군(Ⅱ군, n=5)을 대상으로 비교 분석하였다. Ⅰ군에서는 좌전하행지에 3개, 우관상동맥에 1개의 대조 맥스텐트를 시술하였고,

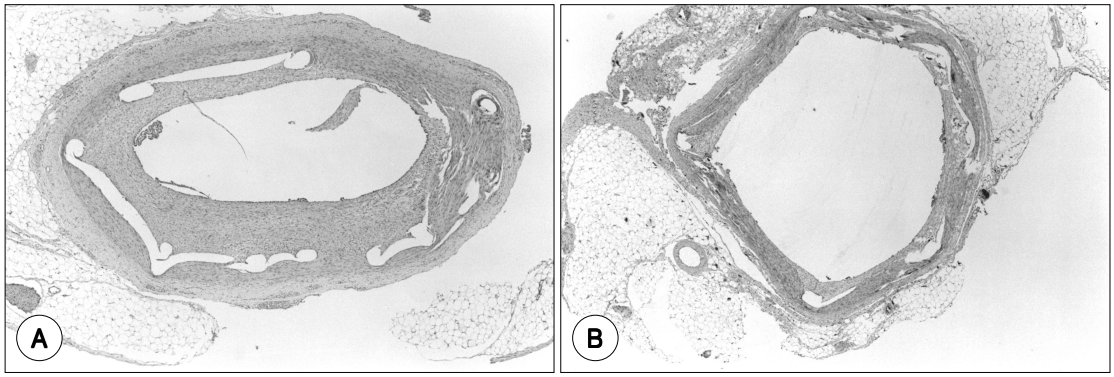

Fig. 3. Hematoxylin-Eosin stain of porcine coronary artery. Neointimal area and pathologic stenosis were higher in control stented artery (A) than in heparin-coated stented artery (B).

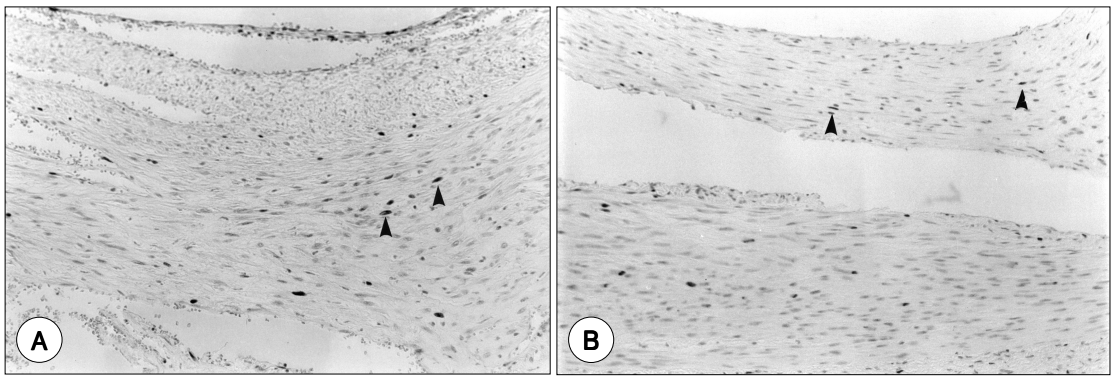

Fig. 4. Proliferating cell nuclear antigen index were higher in control stented artery (A) than in heparin-coated MAC stented artery (B). PCNA positive cells are indicated by arrorw head.

Ⅱ군에서는 좌전하행지에 2개, 우관상동맥에 3개의 헤파린 부착 맥스텐트를 시술하였다. 각 군의 관상동맥 조영술 소견, 조직 병리학적 혈관 손상 정도, 협착 정도, 신생내막 형성 정도, PCNA 양성 세포 지수 등은 다음과 같았다(Figs. 3 and 4).

1) 모든 돼지에서 급성 및 아급성 스텐트 혈전은 발생하지 않았다.

2) 스텐트 시술 4 주후 추적 정량적 관상동맥 조영술로 측정한 근위부 기준 혈관 내경은 Ⅰ군 3.43±0.39 mm, Ⅱ군 3.26±0.61 mm, 원위부 기준혈관 내경은 Ⅰ군 3.25±0.35 mm, Ⅱ군 3.10±0.58 mm 최소혈관 내경은 Ⅰ군 2.73±0.22 mm, Ⅱ군 2.66±0.44 mm, 스텐트 시술 혈관 협착율은 Ⅰ군 18.1±3.8%, Ⅱ군 15.9±4.5%로서, 양군간에 유의한 차이가 없었다(Table 1).

3) 관상동맥 조직에서 관찰한 스텐트에 의한 혈관 손상 지수는 Ⅰ군 1.09±0.08, Ⅱ군 1.08±0.09로서 양군간에 차이가 없었다(Table 2).

4) 스텐트 시술혈관에서 병리조직학적 검사로 측정한 외탄력층 면적은 Ⅰ군 13.99±1.17 mm^2, Ⅱ군 13.88±1.25 mm^2, 내탄력층 면적은 Ⅰ군 10.75±1.03 mm^2, Ⅱ군 10.49±1.82 mm^2, 스텐트 시술 혈관의 내경 면적은 Ⅰ군 7.05±1.25 mm^2, Ⅱ군 7.67±2.85 mm^2로서 양군간에 유의한 차이가 없었다(Table 2).

5) 스텐트 시술 혈관의 병리조직학적 협착율은 Ⅰ군 35.7±13.2%, Ⅱ군 28.6±14.7%로서 Ⅰ군에 비해 Ⅱ군에서 낮았다($p<0.05$, Table 2).

6) 스텐트 시술 관상동맥의 내막/중막 비율은 Ⅰ군 1.16±0.52, Ⅱ군 0.87±0.31 이었고, 신생내막 영역은 Ⅰ군 3.81±1.78 mm^2, Ⅱ군 2.82±1.11 mm^2로서, Ⅱ군에서 유의하게 낮았다(각각 $p<0.05$, Table 2).

7) PCNA양성 세포율은 Ⅰ군 10.0±2.2 %, Ⅱ군 6.8±4.0%로서, Ⅰ군에 비해 Ⅱ군에서 낮았다($p<0.05$, Table 2).

Table 1. Quantitative coronary angiographic findings in Group Ⅰ (MAC stent) and Group Ⅱ (heparin-coated MAC stent) four weeks after stenting

	Group Ⅰ	Group Ⅱ
Proximal reference diameter (mm)	3.43±0.39	3.26±0.61
Distal reference diameter (mm)	3.25±0.35	3.10±0.58
Minimal luminal iameter (mm)	2.73±0.22	2.66±0.44
Diameter stenosis (%)	18.1 ±3.8	15.9 ±4.5

Table 2. Histopathologic assessment of stented porcine coronary arteries in Group Ⅰ (MAC stent) and Ⅱ (Heparin-coated MAC stent)

	Group Ⅰ	Group Ⅱ
Injury score	1.09± 0.08	1.08± 0.09
External elastic lamina area (mm^2)	13.99± 1.17	13.88± 1.25
Internal elastic lamina area (mm^2)	10.75± 1.03	10.49± 1.82
Lumen area (mm^2)	7.05± 1.25	7.67± 2.85
Media area (mm^2)	3.29± 1.18	3.12± 1.41
Neointima area (mm^2)	3.81± 1.78	2.82± 1.11*
Area stenosis (%)	35.7 ±13.2	28.6 ±14.7
Neointima/media ratio	1.16± 0.52	0.87± 0.31*
PCNA index (%)	10.0 ± 2.2	6.8 ± 4.0*

*$p<0.05$

고 안

관상동맥 질환은 최근 국내에서도 급증하여 한국 성인의 주요한 사망 원인이 되고 있다.[1)2)] 1977년 Gruentzig[37)]가 경피적 관상동맥 풍선 확장술을 소개한 이후, 중재적 심장병 치료 전문가의 경험 축적과 기술 발달, 심한 관상 동맥 병변을 용이하게 통과할 수 있는 개선된 유도 철선과 풍선도자의 발달로 그 성공률이 점차 높아져 관상동맥 우회술을 대신하여 관상동맥 환자의 치료에 널리 이용되고 있다.[2)] 관상동맥 중재술의 초기 성공률은 95% 이상을 보이지만,[3)] 관혈적인 관상동맥 중재술 후에 10% 정도에서는 내막 박리 혹은 혈전의 형성에 의한 급성 혈관 폐쇄가 발생하고 6개월 이내에 30 50% 정도의 환자에서 발생할 수 있는 관상동맥의 재협착이 해결되어야 할 가장 큰 임상적 문제점으로 지적되고 있다.[5)6)] 많은 새로운 시술 기구가 관상동맥 중재술에 도입되고 있으며, 그 중에서도 1987년부터 임상에 이용되고 있는 관상동맥 스텐트의 도입으로 관상동맥 중재술 후에 발생할 수 있는 내막 박리, 혈전, 혈관 수축 등과 같은 급성 합병증을 1% 이하로 낮출 수 있고 재협착과 같은 만성 합병증도 20 30%로 감소되었다.

관상동맥 스텐트의 효과가 좋지만 스텐트 자체가 혈전 형성을 할 수 있어서 급성 및 아급성 혈전에 의한 급성 스텐트 혈전성 폐쇄를 가져 올 수 있고 만성 합병증인 재협착률도 20 30%로 비교적 높다는 문제점이 있다. 또한, 응급 구제 시술(bail-out procedure)을 실시하거나 당뇨병, 3.0 mm 이하의 작은 혈관, 혈전 형성 활동체계(thrombogenic activity)가 증가되어 있는 불안정형 협심증이나 급성 심근경색증 환자 등에서는 스텐트 혈전 및 재협착률이 높으며, 스텐트내 재협착률도 높다고 알려져 있다.[8)]

관상동맥 스텐트의 시술 효과를 개선시키기 위하여 스텐트 혈전을 예방할 수 있는 물질을 스텐트에 부착하는 방법을 시도하였으며, 헤파린 부착 스텐트는 헤파린의 항응고, 항혈소판 기능으로 스텐트 시술 후의 급성 폐쇄를 예방 할 수 있을 것으로 생각된다. Scheerder D 등[38)]은 쥐의 동정맥 단락에서 헤파린 부착 스텐트와 부착하지 않은 대조 스텐트를 삽입한 30분 후의 혈전의 형성 정도와 ^{125}I-labeled fibrinogen과 ^{51}Cr-labeled platelet의 activity를 측정하여 헤파린을 스텐트에 부착하였을 때 스텐트의 문제점으로 지적되고 있는 혈전 형성 경향을 감소시킬 수 있음을 보여주고 있다.

관상동맥 스텐트 시술후에 발생하는 재협착의 기전 중 중요한 기전은 스텐트 혈전 및 신생내막 세포의 증식이며,[8)21)] 이외에도 세포외 기질의 형성과 관계된 재형성, 내막과 중막의 박리, 고사, 잔여 협착 등으로 생각되어 진다.[39)] 현재까지 많은 약물들이 재협착 예방을 위하여 시도되어 왔으며, 약물 요법으로는 항혈소판 제제인 platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor 차단제,[40)] nitric oxide,[7)8)] antithrombin 제재인 hirudin 과 hirulog,[1)] 지질 강하제인 probucol[42)] 등과 fish oil,[43)] angiopeptin[44)] 등이 있고 유전자 요법으로 anti-growth factor인 platelet-derived growth factor (PDGF) anti-body,[45)] c-myc, c-myb, c-fos 등의 proto-oncogene에 대한 antisense nucleotide 등[13-15)]과 nitric oxide synthase gene 등에 의한 gene transfection에 의한 치료 등 많은 치료 방법들이 시도되고 있다. 그러나, 대부분 동물 실험 결과는 효과적이었지만 임상에서 환자를 대상으로 전신 투여된 약제들의 효과는 확실치 않았고 부작용이 심하였다. 따라서, 전신적인 부작용를 줄이면서 관상동맥 병변의 재협착을 감소시킬 수 있는 방법의 하나로 국소 약물 전달 요법이 고안되었고, 본 연구에서와 같이 약물이 부착된 스텐트를 시술함으로써 전신 부작용을 막고 혈관내 스텐트에 오랜 기간 약물이 잔존할 수 있어 효과적일 것이라 생각되었다.[8)]

BENESTENT-II 연구[47)]의 중간 보고에서는 헤파린 부착 Palmaz-Schatz 스텐트를 시술 받은 환자에서 급성 및 아급성 스텐트 혈전 형성에 의한 합병증의 발생이 없었으며, 6개월의 추적 관찰에서도 BENESTENT-I 연구의 대조 스텐트를 시술하였던 군과 비교하여 임상적 무사고 생존율이 높았고 6개월 후 추적 관상동맥 조영술에서 재협착률도 20%에서 13%로 유의하게 감소하였다. 전신적인 항응고 요법없이 헤파린 부착 스텐트로만 유지했던 군과 전신적인 항응고 요법을 함께 시행하였던 군을 비교하였을 때, 임상적 문제 발생률과 재협착률에서 차이를 보이지 않으면서, 헤파린 부착 스텐트 시술군에서는 출혈의 합병증을 보이지 않았다. 1997년 발표된 BENESTENT-II 연구의

최종 보고에서도 헤파린 부착 스텐트의 재협착률은 17%를 보여 긍정적인 결과를 보여주었다.

헤파린 부착 Wiktor stent를 이용한 MENTOR (Multicenter International Trial) 시도에서 단기간의 성적은 긍정적인 결과를 얻었고 6개월과 12개월 후의 추적 검사에서 임상적 결과와 재협착의 방지에 긍정적인 효과를 얻을 것으로 기대되고 있다.[48)]

본 연구에서는 국내 연구진에 의해 새로이 개발된 헤파린 부착 관상 동맥 맥스텐트(heparin-coated MAC stent)와 대조 스텐트(bare MAC stent)를 돼지의 관상 동맥에 시술하여 전신적인 출혈 부작용을 막고 혈관내에 헤파린이 오랜 기간 잔존하도록 하여, 재협착의 예방에 대한 헤파린 부착 스텐트의 효과를 관찰하여 관상동맥 질환의 효과적인 치료법을 찾고자 하였다. 헤파린 부착 맥스텐트의 헤파린 부착 방법은 저온 플라스마 공정을 이용하여, 관능기를 함유한 유기 박막을 코팅한 다음 헤파린을 부착시키는 방법을 이용하였다. 저온 플라스마 공법은 기체 또는 유기 증기를 저압상태에 있는 반응기에 주입하면서 전기적 방전을 이용하여 플라스마 상태로 전환시킬 때 생성되는 반응종들을 이용하여 고체의 표면을 개질시키는 공정이다.[26)27)] 반응종들은 종류에 따라 고체 표면층의 분자들과 반응하여 고체 표면층의 물리, 화학적 변화를 초래하거나 서로 반응하면서 중합과정을 거쳐 고체 표면에 고분자 박막의 형태로 입혀진다. 이 공정은 건식 공정이며, 개질의 폭이 넓고, 개질된 표면이 안정하며, 환경 친화적이라는 장점들 때문에 여러 가지 목적의 표면 개질에 널리 애용되어 가고 있다.[26-36)] 생적합성 향상을 위한 박막 코팅에는 코팅 후 생적합성의 우수성이 입증된 메탄, 유기실리콘, 불소탄화물 등의 플라스마를 이용하며,[27)] 약물의 부착능 향상을 위한 박막 코팅에는 박막 코팅후 박막에 관능기를 함유시킬 수 있는 acrylic acid, diaminocyclohexane 등의 플라스마를 이용한다.[28-30)] 저온 플라스마 공정은 공정조건에 따라 크게 달라지므로 기체 유량, 압력, discharge power, 처리시간, 박막의 두께 등을 변화시켜 가면서 생적합성 및 약물 부착능 시험 결과와 비교 검토하면서 최적 공정조건을 찾는다. 박막 코팅과 약물 부착 후 금속 표면의 물리적 형태 및 화학적 조성은 주사전자현미경, 적외선분광분석기, 광전자분광분석기 등의 분석 기기를 이용하여 분석하고, 박막의 두께는 Thickness Monitor를 이용하여 측정한다. 생적합성 시험은 금속 시편을 혈액에 담그고 시간에 따른 무게변화를 관찰한 다음, 약물 부착능은 금속 시편을 약물용액에 일정시간 담근 다음 무게 변화를 측정하여 판단하고, 부착능이 우수한 시편들은 주사전자현미경, 광전자분광분석기, 적외선분광분석기 등의 분석 기기를 이용하여 정밀 조사한다.

본 연구의 결과에 의하면, 헤파린 부착 맥스텐트는 돼지 관상동맥 모형에서 효과적으로 신생내막내 세포의 증식을 억제할 수 있는 것으로 생각되었으며, 향후 더 많은 예의 동물 실험을 진행하고 소독법에 따른 헤파린 부착 안정도를 검토하여 임상 연구를 시도할 예정이다.

요 약

연구배경 :

관상동맥 질환의 치료에 있어서 관상동맥 중재술이 관상동맥 우회술을 대신하여 임상에서 시술되고 있으며, 관상동맥 중재술 방법중 관상동맥 스텐트가 내막박리에 의한 급성 혈관 폐쇄를 치료하고 재협착을 예방할 수 있어서 가장 많이 사용되고 있다. 그러나, 관상동맥 스텐트 재협착율이 아직도 20 30%로서 비교적 높은 편이서 스텐트 재협착에 대한 새로운 시도가 요구되고 있다. 본 교실에서는 국내 연구진에 의해 개발된 맥(脈 : Maximum Arterial Re-Creation Stent)스텐트의 효과에 대하여 돼지 관상동맥 모형을 이용하여 보고한 바 있으며, 고분자 플라즈마 공법에 의하여 헤파린을 부착시킨 맥 스텐트의 스텐트 재협착 예방에 대한 효과를 동물모형을 이용하여 알아보았다.

방 법 :

돼지 관상동맥 스텐트 재협착 모형을 이용하여 대조 혈관에서는 헤파린 부착이 되지 않은 맥 스텐트(control MAC stent, 한국 메디텍사 제공) 를 이용하여 과확장 손상만을 가하고 치료 혈관은 헤파린 부착 스텐트(heparin-coated MAC stent) 를 동일한 방법으로 과확장하여, 시술한 4주 후에 추적 관상동맥 조영술을 실시하고 희생시켜 병리조직학적 소견을 관찰하였다. 관상동맥 스텐트는 모두 9개의 MAC stent를 시술하였고 대조 스텐트 시술 군(Ⅰ군, n=4)과 Heparin 부착 스텐트 시술 군(Ⅱ군, n=5)을 대상으로 분석하였다.

결 과 :

1) 모든 돼지에서 급성 및 아급성 스텐트 혈전은 발

생하지 않았다.

2) 정량적 관상동맥 조영술로 측정한 스텐트 시술 혈관 협착율은 Ⅰ군 18.1±3.8%, Ⅱ군 15.9±4.5%로서, 양군간에 유의한 차이가 없었다.

3) 관상동맥 조직에서 관찰한 스텐트에 의한 혈관 손상 지수는 Ⅰ군 1.09±0.08, Ⅱ군 1.08±0.09로서 양군간에 차이가 없었다.

4) 스텐트 시술혈관에서 병리조직학적 검사로 측정한 스텐트 시술 혈관의 내경 면적은 Ⅰ군 7.05±1.25 mm^2, Ⅱ군 7.67±2.85 mm^2로 유의한 차이가 없었다.

5) 스텐트 시술 관상동맥의 내막/중막 비율은 Ⅰ군 1.16±0.52, Ⅱ군 0.87±0.31 이었고, 신생내막 영역은 Ⅰ군 3.81±1.78 mm^2, Ⅱ군 2.82±1.11 mm^2Ⅱ, 내경협착은 Ⅰ군 35.7±13.2%, Ⅱ군 28.6±14.7%, PCNA 양성 세포율은 Ⅰ군 10.0±2.2%, Ⅱ군 6.8±4.0%로서, Ⅰ군에서 Ⅱ군보다 각각 유의하게 높았다 (각각 $p<0.05$).

결 론 :

고분자 프라즈마 공법을 이용한 헤파린 부착 맥스텐트는 관상동맥 스텐트 시술후 발생하는 신생내막 형성을 억제하여 스텐트 재협착에 영향을 미칠 수 있음을 알 수 있었다.

중심 단어 : 헤파린 부착 스텐트 · 관상동맥 재협착.

■ 감사문

본 연구는 1997연도 전남대학교 공동연구비, 1998연도 전남대학교 병원 임상연구소 연구비(CUHRI - U - 98030)및 1998연도 보건의료기술 연구개발사업 연구비(HMP - 98 - M - 5 - 0059)등의 지원에 의해 이루어졌음.

REFERENCES

1) Seo HS, Oh DJ. *Risk factors of atherosclerotic coronary artery disease in Korean people. Korean Circulation J 1998;28:845-8.*
2) Jeong MH. *Comparison of medical therapy, coronary intervention and bypass surgery in the treatment of coronary artery disease. Korean Circulation J 1997;27: 183-7.*
3) Park JC, Jeong MH, Kim JH, Kim SH, Kim JW, Bae Y, *et al. Clinical characteristics of coronary intervention in old aged patients. Korean Circulation J 1998;28:256-61.*
4) Cho SY. *Percutaneous transluminal coronary angioplasty. Korean Circulation J 1992;22:905-11.*
5) Park SJ, Park SW, Kim JJ, Song JK, Doo YC, Lee JK. *Dissection after coronary angioplasty. Korean Circulation J 1992;22:219-30.*
6) Seung KB. *Coronary radiation for the prevention of the prevention of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. Korean Circulation J 1998;29:161-3.*
7) Jeong MH, Park JC, Cha GS, Bae Y, Ahn YG, Park JH, *et al. The effects of local nitric oxide donor delivery in stented patients. Korean Circulation J 1997;27:592-9.*
8) Yoon YS, Jang YS, Chung KH, Kim HK, Park YS, Kang WC, *et al. The effects of estrogen containing liposome local delivery on the neotintimal hyperplasia in the rat carotid artery balloon-injury. Korean Circulation J 1998;28:1357-71.*
9) Jeong MH. *Local drug delivery in the prevention and treatment of coronary restenosis. Korean Circulation J 1996;28:I95-104.*
10) Jeong MH, Park JC, Cha KS, Seo JP, Park JH, Cho JG, *et al. Successful coronary stent implantation without systemic heparin therapy: Use of local heparin delivery. Korean Circulation J 1997;27:988-94.*
11) Teirstein PS, Massullo V, Jani S, Popma JJ, Mintz GS, Russo RJ, *et al Catheter-based radiotherapy to inhibit restenosis after coronary stenting. N Eng J Med 1997; 336:1697-703.*
12) Waksman R, Robinson KA, Crocker IR, Wang C, Gravanis MB, Cipolla GD, *et al. Intracoronary low-dose β-irradiation inhibits neointima formation after coronary artery balloon injury in the swine restenosis model. Circulation 1995;92:3025-31.*
13) Simons M, Edelman E, DeKeyser JL. *Antisense c-myb oligonucleotides inhibit arterial smooth muscle cell accumulation in vivo. Nature 1993;359:67-70.*
14) Shi Y, Fard A, Galeo A. *Transcatheter delivery of c-myc antisense oligomers reduce neointimal formation in a porcine model of coronary artery balloon injury. Circulation 1994;90:944-51.*
15) Ohno T, Gordon D, San H, Pompili V, Impenale MJ, Nabel GJ, *et al. Gene therapy for vascular smooth muscle cell proliferation after arterial injury. Science 1994;265: 781-4.*
16) Fischman DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP, Penn I, *et al. A randomized comparison of coronary stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. N Engl J Med 1994;331:496-501.*
17) Serruys PW, Jaegere PD, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrick G, *et al. A Comparison of balloon-expandable stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary heart disease. N Engl J Med 1994;331:489-95.*
18) Kim NH, Jeong MH, Bae Y, Ahn YK, Park JH, Cho JG, *et al. The effects of therapeutic duration of combined anti-platelets, aspirin and ticlopidine, on coronary stent restenosis. Korean Circulation J 1998;28:373-81.*
19) Kang KT, Jeong MH, Park JC, Cha KS, Kim SH, *et al. Predictive factors of restenosis after coronary Microstent Ⅱimplantation. Korean Circulation J 1998;28:879-86.*
20) Jeong MH, Owen WG, Staab ME, Sanjay SS, Sangiorgi G, Stewart ML, *et al. Porcine model for stent thrombosis. Cath Cardiovasc Diagn 1996;38:38-43.*
21) Bae Y, Jeong MH, Ahn YK, Park JH, Cho JG, Park JC, *et al. Comparison of porcine coronary stent restenosis between MAC (Maximum Arterial Re-Creation) Stent and Palmaz-Schatz Stent. Korean Circulation J 1998;28:89-96.*
22) Jeong MH, Schwartz RS. *Proliferation indices of coro-*

nary neointima. J Invas Cardiol 1996;8:64.
23) Staab ME, Meeker DK, Edwards WD, Camrud AR, Jorgenson MA, Camrud LJ, *et al. Reliable model of severe coronary stenosis in porcine coronary arteries. J Intervention Cardiol 1997;10:61-9.*
24) Staab ME, Srivatsa SS, Lerman A, Sangiorgi G, Jeong MH, Edwards WD, *et al. Arterial remodeling after experimental percutaneous injury is highly dependent on adventitial injury and histopathology. International J Cardiology 1997;58:31-40.*
25) Gregoire J, Edwards ED, Jeong MH, Camrud AR, Lerman A, Van Tassel RA, *et al. Short wave ultraviolet laser energy in porcine coronary arteries: Medial cell death and neointimal formation. Lasers Surg Med 1997;21: 374-93.*
26) Cho DL, Yasuda H. *Tribological application of plasma polymers. J Appl Polym Sci 1988;42:139-56.*
27) Parker JL, Cho DL, Claesson PM. *Plasma modification of mica: Forces between fluorocarbon surfaces in water and a nonpolar liquid. J Phys Chem 1989;93:6121-5.*
28) Cho DL, Claesson PM, Golander CG, Johansson K. *Structure and surface properties of plasma polymerized acrylic acid layers. J Appl Polym Sci 1990;42:1373-90.*
29) Cho DL, O Ekengren. *Composite membranes formed by plasma polymerized acrylic acid for ultrafiltration of bleached effluent. J Appl Polym Sci 1993;47:2125-33.*
30) Golander CG, Rutland MW, Cho DL, Johansson A, Ringblom H, Jonsson S, *et al. Structure and surface properties of aminocyclohexane plasma polymerized films. J Appl Polym Sci 1993;49:39-51.*
31) Cho DL. *Theory of plasma polymerization. Polym Sci 1995;6:499-508.*
32) Hoffman AS. *Adsorption and immobilization of proteins on gas discharge-treated surfaces. J Appl Polym Sci 1990;46:341-60.*
33) Haraguchi T, Hatanaka C, Ide S, Nishimiya K, Kajiyama T. *Immobilization of glucoamylase by plasma-initiated polymerization and evaluation of enzyme activity. J Appl Polym Sci 1990;46:385-98.*
34) Triolo PM, Andrade JD. *Surface modification and evaluation of some commonly used catheter materials. I. Surface properties. J Biomed Mater Res 1983;17:129-47.*
35) Yeh YS, Iriyama Y, Matsuzawa Y, Hanson SR, Yasuda H. *Blood compatibility of surfaces modified by plasma polymerization. J Biomed Mater Res 1988;22:795-818.*
36) Karakelle M, Zdrahala RJ. *Membranes for biomedical applications: Utilization of plasma polymerization for dimensionally stable hydrophilic membranes. J Memb Sci 1989;41:305-13.*
37) Gruentzig A. *Transluminal dilation of coronary artery stenosis. Lancet 1978;1:1263.*
38) De Scheerder I, Wang K, Wilczek K, Meuleman D, Van Amsterdam R, Vogel G, *et al. Experimental study of thrombogenecity and foreign body reaction induced by heparin-coated coronary stents. Circulation 1997;95: 1549-53.*
39) Currier JW, Faxon DP. *After percutaneous transluminal coronary angioplasty: Have we been aiming at the wrong target? J Am Coll Cardiol 1995;25:516-20.*
40) EPIC Investigators. *Use of a monoclonal antibody directed against the platelet glycoprotein ⅡⅠb/ⅢⅠa receptor in high risk coronary angioplasty. N Engl J Med 1994; 330:956.*
41) Sarembock IJ, Gertz SD, Gimple LW, Owen RM, Powers ER, Robert WC. *Effectiveness of recombinant desulphatohirudin in reducing restenosis after balloon angioplasty of atherosclerotic femoral arteries in rabbits. J Am Coll Cardiol 1991;17:251-59.*
42) Schneider JE, Berk BC, Gravanis MB, Santonian EC, Cipolla GD, Tarazona N, *et al. Probucol decrease neointimal formation in a swine model of coronary artery balloon injury. A possible role for antioxidants in restenosis. Circulation 1993;88:628-37.*
43) Lichternstein AH, Chobanian AV. *Effects of fish oil on atherogenesis in Watanable heritable hyperlipidemic rabbit. Atherosclerosis 1990;10:597-606.*
44) Howell M, Trowbridge R, Foregh M. *Effects of delayed angiopeptin treatment on myointima hyperplasia following angioplasty. J Am Coll Cardiol 1991;17:181A.*
45) Naftilan AJ, Pratt RE, Dzau VJ. *Induction of platelet derived growth factor A chain and c-myc expression by angiotensin Ⅱ in culture rat vascular smooth muscle cells. J Clin Invest 1989;83:1419-1424.*
46) Hardhammar PA, van Beusekom HM, Emaneulsson HU, Hofma SH, Albertsson PA, Verdouw PD, *et al. Reduction in thrombotic events with heparin-coated Palmaz-Schatz stents in normal porcine coronary arteries. Circulation 1996;93:423-30.*
47) Serruys PW, Emanuelsson H, van der Giessen W, Lunn AC, Kiemeney F, Macaya C, *et al. Heparin-coated Palmaz-Schatz stents in human coronary arteries. Early outcome of the Benestent-Ⅱ Pilot Study. Circulation 1996;93: 412-22.*
48) Fontaine AB, Koelling K, Clay J, Spigos DG, Passos SD, Christoforidis G, *et al. Decreased platelet adherence of polymercoated tantalum stents. JVIR 1994;5:567-72.*