

# 고주파 소작 후 조직 증식 및 세균 성장 억제 은나노기능화 담관 스텐트

박유빈<sup>1,2</sup>, 원동성<sup>1</sup>, 박우람<sup>3</sup>, 이상수<sup>2</sup>, 박정훈<sup>1\*</sup>

서울아산병원 의공학연구소<sup>1</sup>, 서울아산병원 소화기내과<sup>2</sup>, 성균관대학교 융합생명공학과<sup>3</sup>

## Silver Nanofunctionalized Stent after Radiofrequency Ablation Suppresses Tissue Hyperplasia and Bacterial Growth

Yubeen Park<sup>1</sup>, Dong-Sung Won<sup>1</sup>, Wooram Park<sup>2</sup>, Sang Soo Lee<sup>3</sup>, Jung-Hoon Park<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Biomedical Engineering Research Center, Asan Medical Center, Asan Institute for Life Science, Korea

<sup>2</sup>Department of Gastroenterology, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Korea

<sup>3</sup>Department of Integrative Biotechnology, College of Biotechnology and Bioengineering, Sungkyunkwan University, Korea

\*jhparkz@amc.seoul.kr

### Abstract

Intraductal radiofrequency (RF) ablation combined with placement of a self-expandable metal stent (SEMS) for malignant biliary obstruction has risks such as stent- and heat-induced biliary sludge and restenosis. Silver nanoparticles (AgNPs) have antibacterial, anti-inflammatory, and antiplatelet properties and have been used for the prevention of infection in various clinical fields. Stents coated with AgNPs have been actively investigated to prevent in-stent restenosis caused by tissue hyperplasia along with inflammatory responses and biofilm formation resulting from bacterial adherence. Here, we investigated the efficacy of a AgNPs-coated SEMS to inhibit tissue hyperplasia and bacterial growth caused by RF ablation with stent placement in the rabbit bile duct.

### 1. 연구 배경

악성 담관 폐쇄(malignant biliary obstruction)는 담관암, 췌장암, 외부 압박, 염증 등과 같이 다양한 요인에 의해 발생한다. 악성 담관 폐쇄는 주로 후기에 진단되는 경우가 많기 때문에 수술적 절제가 가능한 환자의 비율을 30%에 불과하여 사망률이 높다. 이에 황달과 같은 증상 완화를 통해 환자의 삶의 질을 향상시키는 치료법으로써 자가팽창형 금속 스텐트(self-expandable stent, SEMS) 삽입이 많이 사용되고 있다. 그러나, 자가팽창형 금속 스텐트는 6~8개월 이내에 발생하는 종양 내증식(tumor ingrowth), 조직 과증식(tissue hyperplasia), 생물막 침착(biofilm deposition), 재협착을 동반한 담도 찌꺼기(sludge) 형성으로 인한 재발 증상이 빈번하게 발생하는 문제를 가지고 있다[1].

고주파 소작술(radiofrequency ablation, RF ablation)은 절제 불가능한 악성 담관 폐쇄의 고식적 관리를 위한 새로운 치료법으로 제시되었다. 고주파 소작술은 고주파 교류를 가하여 종양 조직 내 발생한 마찰열로 종양 부위에 응고 괴사(coagulation necrosis)를 일으켜 담관의 개통성과 배수 기능을 유지할 수 있는 치료법이다. 고주파 소작술은 시술이 쉽고 다양한 임상시험을 통해 안전성과 유효성이 검증되었다. 그러나 담관에 대한 열적 손상은 주변 정상 조직에도 영향을 줄 수 있으며, 부종(edema), 염증(inflammation), 반흔화(cicatriztion)로 인해 협착이 발생할 수 있다. 이러한 문제점을 보완하고자 고주파 소작술과 자가팽창형 스텐트를 병행하는 치료법이 대두되고 있으며, 각각의 단독 치료보다 담관의 개통성 측면에서 더 나은 임상 결과가 보고되고 있다. 그러나 이 조합은 세균으로 인한 염증 반응 및 패혈증의 위험을 증가시켜 담관염, 췌장염 및 담낭 농흉(gallbladder empyema)을 유발할 수 있다는 큰 문제점이 있다[2].

은 나노입자(silver nanoparticle, AgNP)는 항균, 항염, 항산화, 항혈관신생, 항혈소판과 같은 특성을 가지고 있어 다양한 임상분야에서 감염 예방에 활용되고 있다. 은 나노입자를 코팅한 스텐트는 염증 반응과 세균으로 인한 생물막 형성 및 조직 증식으로 인한 스텐트 내 재협착을 예방하기 위한

방법으로써 활발히 연구되고 있다[3]. 따라서, 본 논문에서는 고주파 소작 후 은 나노입자가 코팅된 자가팽창형 스텐트를 배치하여 열 손상 및 스텐트로 인한 세균 및 염증 반응을 억제할 수 있다고 가정했으며, 토끼의 간외담관에 고주파 소작술을 진행 후 은 나노입자를 코팅한 자가팽창형 스텐트를 배치하여 스텐트와 열 손상으로 인한 조직 증식 및 세균 성장의 억제 효능을 확인하였다(그림 1).

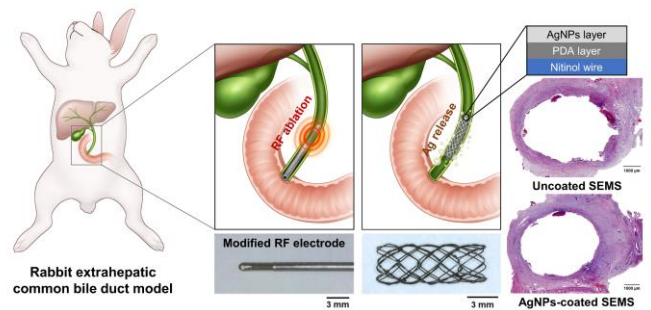


그림 1. 토끼 간외 담관에서 고주파 소작 후 은 나노입자를 코팅한 자가팽창형 스텐트 배치의 개략도

### 2. 연구 방법

실험에 사용된 은 나노입자 코팅 스텐트의 세균 성장 억제 효과를 확인하기 위하여 방출 거동 및 스텐트와 대장균을 함께 배양하여 세균 활성 정도를 평가하였다.

스텐트 평가를 마친 후, 토끼 간외담관에서 은 나노입자 코팅 스텐트의 효능을 평가하기 위해 고주파 소작 후 코팅하지 않은 스텐트를 배치한 대조군(n=6)과 은 나노입자 코팅 스텐트를 배치한 실험군(n=6)으로 나누어 실험을 진행하였다. 고주파 소작술의 조건 값은 10W, 60초, 70°C로 세팅하여 진행했다.

고주파 소작술 후 스텐트 배치 시술은 토끼를 마취 후, 복

부를 3cm 개복하여 진행했다. 주변 조직에 상처를 주지 않고 자 끝을 몽톡하게 간 18G의 바늘형 전극을 간외담관에 삽입 후 고주파 소작을 진행했다. 소작 직후, 각 그룹에 맞는 스텐트를 소작 부에 배치하고 개복된 복부는 봉합했다. 모든 토끼는 4주 간 매주 마다 관찰 및 체중을 측정하였다.

실험 4주 후 안락사 직전에 모든 토끼는 스텐트의 위치 및 개통성 확인을 위한 담관조영술을 진행했다. 또한, 혈액학적 분석을 위해 정맥에서 혈액 샘플을 채취하여 AST, ALT, ALP, GGT, total bilirubin 정도를 평가하였다.

안락사 후, 담관을 적출하여 육안검사를 진행했으며 담도 찌꺼기 및 육아조직 형성 정도를 평가하였다. 이후, 모든 조직 샘플은 조직학적 분석을 위해 파라핀 블록에 고정된 다음 헤마톡실린-에오신 염색(H&E) 및 마손 삼색 염색(MT)을 진행했다. 또한, 면역조직화학적 분석으로 TUNEL,  $\alpha$ -SMA, HSP70 염색을 진행했다.

### 3. 연구 결과

은 나노입자 코팅 스텐트의 방출 거동은 초반 2시간 동안 많은 양의 방출 거동을 보였다. 2시간이후로는 점차적으로 감소함을 확인할 수 있었다. 7일동안 배양된 세균 활성은 대조군 스텐트와 비교하여 실험군 스텐트에서 유의미하게 세균 활성이 억제됨을 확인했다. 따라서, 은 나노입자가 7일동안 꾸준히 방출됨을 통해 대장균의 성장을 효과적으로 억제한다는 것을 확인할 수 있었다(그림 2).

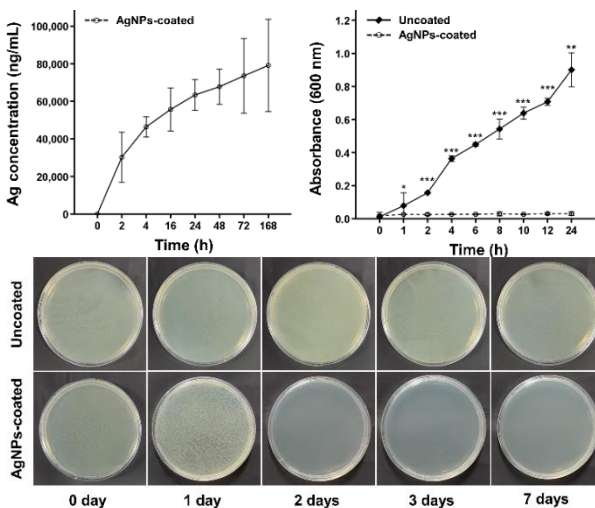


그림 3. 대조군 및 실험군 스텐트의 시험관 내 항균 평가

고주파 소작 직후 스텐트 배치 시술은 모든 토끼에서 절차 관련 합병증 없이 성공적으로 수행되었다. 두 그룹군 모두 시술 후 체중이 감소했으나, 점진적으로 체중을 회복하는 추세를 보였다. 다만, 실험군에서는 초기의 체중과 유사하게 증가하는 양상을 보였지만 대조군에서는 회복률이 미세하여 초기의 체중까지는 도달하지 못했다. 그리고, 대조군의 토끼 6마리 중 3마리에서 황달이 관찰되었다.

담관조영술은 모든 토끼에서 성공적으로 진행됐다. 대조군에서는 심한 스텐트내 협착으로 인해 스텐트가 삽입된 간외담관의 근위부와 원위부가 팽창됐다. 또한, 대조군의 토끼 2마리에서는 스텐트의 완전 폐쇄(total obstruction)가 관찰되었다. 실험군의 스텐트 개통성은 상대적으로 넓었으며 황달 증상도 관찰되지 않았다(그림 3). 혈액학적 분석 결과, 실험군에 비해 대조군의 AST, ALT ALP, GGT, total bilirubin 수치가 더 높게 나타났음을 확인하였다. 해당 결과들을 통해 대조군에서 담관 조직 증식으로 인한 담즙 정체와 간 기능 장

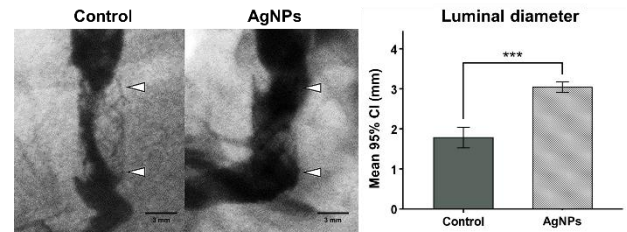


그림 2. 실험 4주 후 담관조영술 및 내강 직경

에 및 담관 폐쇄, 담관 염증이 있었음을 예측할 수 있었다.

육안 검사를 통해 대조군의 담관은 담도 찌꺼기와 생물막으로 가득 차음을 확인하였다. H&E염색 및 MT염색을 통해 염증 세포 침윤 정도, 점막하 섬유증의 두께, 육아 조직의 면적, 콜라겐 침착 정도도 대조군보다 실험군에서 유의하게 낮음을 확인할 수 있었으며, 면역조직화학 분석을 통해서도 세포 괴사 정도, 열 손상 세포 정도, 평활근 세포의 증식 정도 또한 대조군보다 실험군에서 유의하게 낮음을 확인할 수 있었다. 본 실험 결과를 통해 은 나노입자가 고주파 소작 및 스텐트 배치로 인한 열과 기계적 손상의 회복을 촉진한다는 것을 알 수 있었다(그림 4). 따라서, 은 나노입자가 코팅된 자가팽창형 스텐트는 고주파 소작 및 스텐트 관련 합병증 예방 치료전략으로써 유망할 것으로 보인다.

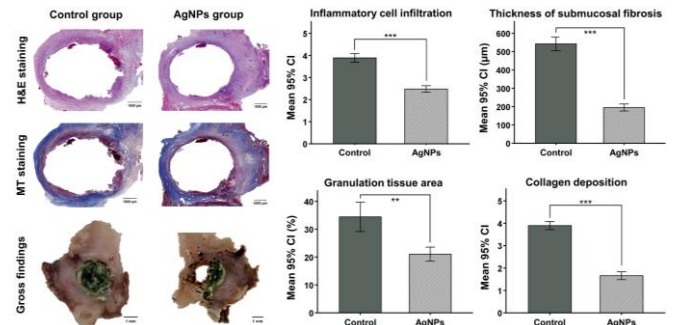


그림 4. 육안 검사 및 조직학적 분석

### 4. Acknowledgements

이 성과는 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (2020R1A2C2C003604). 또한, 본 연구는 정부(과학기술정보통신부, 산업통상자원부, 보건복지부, 식품의약품안전처)의 재원으로 범부처전주기의 료기기연구개발사업단의 지원을 받아 수행된 연구임(과제고유번호: RS-2020-KD000079)

### 5.참고 문헌

- [1] Irisawa, A.; Katanuma, A.; Itoi, T. Otaru consensus on biliary stenting for unresectable distal malignant biliary obstruction. *Dig. Endosc.* 2013, 25 (Suppl. 2), 52–57. <https://doi.org/10.1111/den.12069>.
- [2] Laquière, A. Safety and feasibility of endoscopic biliary radiofrequency ablation treatment of extrahepatic cholangiocarcinoma. *Surg. Endosc.* 2016, 30, 1242–1248. <https://doi.org/10.1007/s00464-015-4322-7>.
- [3] Park, W.; Kim, K.Y.; Kang, J.M.; Ryu, D.S.; Kim, D.H.; Song, H.Y.; Kim, S.H.; Lee, S.O.; Park, J.H. Metallic Stent Mesh Coated with Silver Nanoparticles Suppresses Stent-Induced Tissue Hyperplasia and Biliary Sludge in the Rabbit Extrahepatic Bile Duct. *Pharmaceutics* 2020, 12, 563. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12060563>.