

백서 식도에서 새로운 스텐트 기반 전극을 이용한 고주파 절제술의 예비연구

원동성¹, 박유빈^{1,2}, 김형식³, 이상수², 박정훈^{1*}

서울아산병원 의공학연구소¹, 서울아산병원 소화기내과², 건국대학교 메카트로닉스공학과³

A novel stent-based electrode for radiofrequency ablation in the rat esophagus: A preliminary study

Dong-Sung Won¹, Yubeen Park^{1,2}, Hyung-Sik Kim³, Sang Soo Lee², Jung-Hoon Park^{1*}

¹Biomedical Engineering Research Center, Asan Institute for Life Sciences, Asan Medical Center, Korea

²Department of Gastroenterology, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Korea

³Department of Biomedical Mechatronics Engineering, College of Science & Technology, Konkuk University, Korea

*jhparkz@amc.seoul.kr

Abstract

Radiofrequency (RF) ablation has been widely used as a safe and effective modality for the treatment of various malignancies. RF ablation induces heat generation via ionic agitation within the target tissues caused by a high frequency alternating current. Various RF electrodes have been developed for the management of nonvascular luminal organs but, the formation of a uniform ablation zone is still challenging. A novel nitinol stent-based RF electrode (SE) was developed to deliver RF energy evenly to the inner wall of endoluminal organs. The purpose of this study was to investigate technical feasibility and effectiveness of RF ablation with use of a newly developed SE in the rat esophagus.

1. 연구 배경

고주파 절제술(RFA)은 다양한 악성 종양의 치료를 위한 안전하고 효과적인 방법으로 널리 사용되어 왔다 [1]. 카테터 또는 풍선 기반과 같은 관내 RF 전극은 폐쇄 장애를 비롯하여 수술 불가능한 담도암 및 췌관암과 Barrett 식도의 관리를 위해 개발되었다. 카테터 기반 전극은 취급이 용이한 장점이 있고 악성 담도 폐쇄 임상 시험에서 생존 및 스텐트 재개통에 유익한 효과를 제공했다. 그러나 카테터 기반 전극은 표적 조직과 완전히 접촉할 수 없으며, 직경이 다른 관강 기관에 대해 직경조절이 어려운 단점이 있다 [2]. 풍선 기반 전극은 풍선의 팽창 및 직경 조절을 통해 다양한 형태의 협착에 적용할 수 있다. 그러나, 풍선 크기가 크면 식도벽이 늘어나 풍선 이동을 유발할 수 있다. 또한, 첫 번째 시술 후에도 완전한 절제가 이루어지지 않으면 원주 RFA를 수행하기 위해 반복적인 시술이 필요할 수 있다 [3].

전극에서 떨어진 조직은 주로 열전도에 의해 가열된다. 전극의 인접한 영역은 조직의 감소된 전도율로 인해 가장 높은 전류와 열 대미지를 받는다 [4]. 심한 해부학적 만곡이나 상대적으로 큰 내강 병변으로 인해 전극이 내강 조직과 충

분히 접촉하지 않으면 열 치료 효과가 미미할 수 있다. 최근에는 새로운 스텐트 기반 전극(SE)이 개발되었으며, 이에 따라 내강 조직과의 접촉 면적이 증가하여 균일한 RF 절제 치료 효과가 향상되었을 것이라고 가정하였다. 따라서 본 연구의 목적은 새로 개발된 SE 전극을 백서의 식도에 적용하여 RF 절제술의 기술적 타당성과 효율성을 조사하는 것이다.

2. 연구 방법

실험에 사용된 SE는 0.09mm 두께의 32개 니티놀(nitinol) 와이어를 사용한 모노폴라(monopolar) 형태로 설계되었으며, SE의 직경은 5mm, 길이는 3mm로 구성되어 있다. 이 때, 전달 시스템은 전체 길이가 750mm인 외경 8-Fr 카테터로 구성되어 있다.

위암 세포주를 사용하여 스텐트 기반 RFA의 세포사멸 효과를 검증했다. 세포를 RPMI-1640에서 배양하고, 37°C 및 5% CO₂의 배양기에서 1% 항생제를 보충하였다. 10x10⁵세포를 1.5mL의 배양 배지에서 미세원심분리 튜브에 분취하였다. SE를 배양된 세포 현탁액에 담고 RFA를 30, 40, 50 Watts(W)에서 30초 동안 480kHz의 주파수에서 실행한 후, 수집된 세포 100μL의 분취량을 100μL의 Muse Annexin V & Dead Cell Reagent가 보충된 새로운 미세원심분리 튜브에 첨가하여 배양하였다. 사멸된세포는 Muse cell analyzer를 통해 분석되었고, 총 사멸세포 백분율은 초기 사멸세포와 후기 사멸세포의 합으로 정의되었다.

백서 식도에 RFA를 적용을 위한 최적의 RF 조건 결정 및 절제 범위를 규명하기 위해 외과적으로 목을 절개한 백서의 식도에서 SE를 이용한 RFA를 실행하였다. 30, 40, 50W에서 온도가 70°C에 도달할 때까지 RFA를 인가하였다. RFA 인가 후 40°C로 냉각될 때까지 1초 간격으로 온도를 기록하였다. 식도의 손상정도를 확인하기 위해 육안검사를 진행하였다.

생체 실험은 평균 체중 258.5g인 21마리의 Sprague-Dawley 백서가 사용되었고, 세 마리는 식도에 sham control 절차를 받았으며, 18마리는 식도에 SE를 이용하여 RFA인가 후 즉시, 1주, 2주 희생으로 각각 6마리씩 나누어 그룹화 하



그림 1. 모노폴라형 스텐트 기반 전극

였다. 실험에 이용된 RFA 조건은 40W, 480kHz로 60초 동안 RFA를 인가하였다(그림 2). 시술 후 3일 동안 항생제 및 진통제를 이용하여 고통 경감 등 동물을 관리하였다.

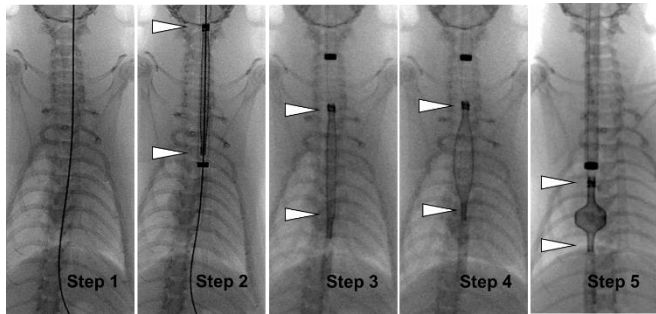


그림 2. 백서 식도 내 스텐트 기반 전극 전개 절차

각 희생 날짜에 따라 동물들을 희생하고, 외과적으로 식도를 추출하여 Hematoxylin & Eosin (H&E)과 Masson's trichrome (MT)로 염색하였다. H&E를 이용하여 점막하 섬유층의 두께, 상피층의 두께를 8개의 지점에서 측정하여 평균을 내었고, 염증세포의 침윤 정도를 염증세포의 분포와 밀도에 따라 주관적으로 판단하였다. 또한, 면역화학염색의 TUNEL 및 HSP70 염색을 이용하여 생체 내 세포사멸 효과 및 열 데미지의 정도를 주관적으로 판단하였다. (1: 경증; 2: 경증에서 중등도; 3: 중등도; 4: 중등도에서 중증; 5: 중증)

3. 연구 결과

위암 세포주 반응은 그림 3. 에서와 같이 확인할 수 있으며, 모든 전력에서 위암세포 사멸을 확인할 수 있다. 총 사멸세포 백분율은 30 (81.71±3.5%), 40 (85.13±3.17%), 50W (83.10±3.12%)로 모든 전력에서 유사한 수준으로, 전력의 크기에 관계없이 SE를 이용한 RFA에서 위암세포 사멸이 달성됨을 확인할 수 있다.

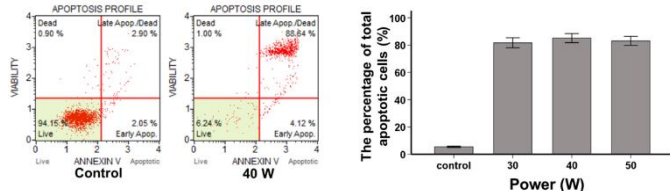


그림 3. RF 조건에 따른 위암 세포 사멸 효과

그림 4. 는 백서 식도의 RFA를 위한 최적의 조건 및 절제 범위를 확인하는 결과이다. 모든 조건에서 식도벽이 얇아지며 점막 손상이 관찰되었고, 인가 시간이 늘어남에 따라 식도벽이 얇아지는 것으로 관찰되었다. 각 전력에서 70°C까지 도달하는 시간은 30W에서 89초, 40W에서 59초, 50W에서 34초로 나타났다. 또한 RFA 에너지 중단 후 40°C까지 냉각 시간은 30W에서 212초, 40W에서 189초, 50W에서 125초로 나타났다. 따라서 백서의 최대 생존율을 고려한 8-Fr의 전달 시스템의 단시간 거치 및 백서 식도에 대한 고주파 열 절제 효과를 최대화를 동시에 달성하기 위한 최적의 RFA 조건은 40W 및 480kHz의 조건으로 60초 동안 인가하는 것으로 나타났다.

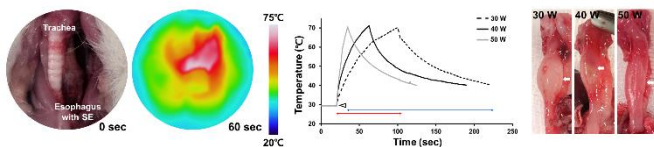


그림 4. 백서 식도에서 최적의 RF 조건 확립

생체 내 SE 기반 RFA는 18마리 백서 중 16마리(88.8%)에서 기술적 성공률을 보였다. 8-Fr의 비교적 두꺼운 전달 시스템으로 인해 시술 중 두 마리 (1주군 1마리, 2주군 1마리)의 쥐가 호흡곤란으로 사망했으며, 이 연구에서 제외되었다. 나머지 16마리는 각 희생날짜까지 생존하였다.

그림 5. 는 각 그룹의 조직학적 검사 결과에 대한 그림이다. 점막하 섬유층의 두께는 sham control 군과 비교하여 RFA 직후 약간 증가하였고, 1주 및 2주에 유의하게 증가하였다. 상피층의 평균 두께는 sham control 군과 비교하여 RFA 직후에 유의하게 감소하였으며, 1주와 2주에 상피층의 두께가 유의하게 증가하였다. 염증 세포 침윤 수준은 sham control 군과 비교하여 RFA 직후, 1주 및 2주 후 시간이 지남에 따라 점진적으로 증가하였다. 콜라겐 침착 정도도 sham control 군과 비교하여 즉시, 1주 및 2주에서 시간이 지남에 따라 점진적으로 증가하였다. TUNEL 양성 침착은 RF 절제 직후 sham control 군에 비해 유의하게 증가하였고, 시술 1주 및 2주 후에 점차 감소하였다. HSP70 양성 침착 수준은 또한 sham control 군과 비교하여 RFA 직후에 상당히 증가하였다. 이 차이는 시술 1주 후와 2주 후에도 유지되었다. 즉, SE를 이용한 RFA는 세포사멸과 함께 조직에 균일한 절제 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 따라서 스텐트 기반 전극을 이용한 RFA는 생체 내 적용이 가능함을 알 수 있다.

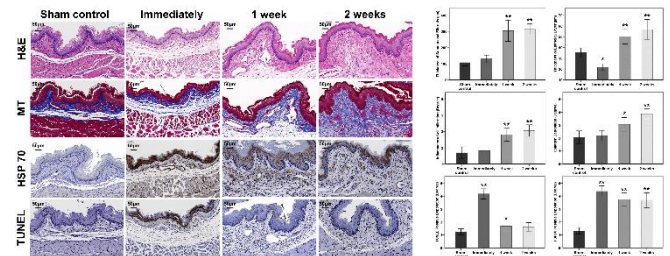


그림 5. 조직학적 변화 대표 이미지 및 그래프

4. Acknowledgements

본 연구는 정부(과학기술정보통신부, 산업통상자원부, 보건복지부, 식품의약품안전처)의 재원으로 범부처전주기의료기 연구개발사업단의 지원을 받아 수행된 연구임(고유번호: RS-2020-KD000079). 또한, 이 성과는 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (고유번호: 2020R1A2C2003604).

5.참고 문헌

- [1] Fang, Z. *et al.* Design of a Novel Electrode of Radiofrequency Ablation for Large Tumors: In Vitro Validation and Evaluation. *J Biomech Eng.*
- [2] Martinek, M. *et al.* Clinical impact of an open-irrigated radiofrequency catheter with direct force measurement on atrial fibrillation ablation. *Pacing and Clinical Electrophysiology* 35, 1312-1318 (2012).
- [3] Sharma, V. K. *et al.* Balloon-based, circumferential, endoscopic radiofrequency ablation of Barrett's esophagus: 1-year follow-up of 100 patients. *Gastrointest Endosc* 65, 185-195.
- [4] Ahmed, M. *et al.* Principles of and advances in percutaneous ablation. *Radiology* 258, 351-369 (2011).