

돼지 이관내에 육아 조직 과증식 억제를 위한 시롤리무스 약물 용출 코발트-크롬 스텐트 연구

강전민^{1,2}, 김승희¹, 박홍주², 박정훈^{1*}

서울아산병원 의공학연구소¹, 서울아산병원 이비인후과²

Sirolimus-eluting cobalt–chrome alloy stent suppresses stent-induced tissue hyperplasia in a porcine Eustachian tube model

Jeon Min Kang^{1,2}, Song Hee Kim¹, Hong Ju Park², Jung-Hoon Park^{1*}

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

²Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Korea

*jhparkz@amc.seoul.kr

Abstract

Various preclinical studies with developed Eustachian tube (ET) stents are in progress but have not yet been clinically applied. ET stent is limited by stent-induced tissue hyperplasia in preclinical studies. Sirolimus, which is a representative drug for anti-proliferation, can inhibit phases of the restenosis cascade. Our study hypothesized that sirolimus may prevent stent-induced tissue hyperplasia in the porcine ET. The purpose of this study was to investigate the effectiveness of sirolimus-eluting cobalt–chrome alloy stent in suppressing stent-induced tissue hyperplasia after stent placement in the porcine ET model.

1. 연구 배경

이관 (ET, Eustachian tube)은 중이에서 비인두를 연결하는 조밀한 관으로 중이의 환기, 비인두로 분비물 전달, 병원성 미생물에 대한 보호 외에도 비인두음 및 비인두로 인한 역류로부터 보호하는 기능을 가진 기관이다. 이관은 일반적으로 닫힌 상태를 유지하지만 삼키거나 하품 또는 무언가를 씹을 때 열리면서 기능을 수행한다. 이러한 이관이 정상적으로 열리거나 닫히지 않을 때 이관기능장애 (ET dysfunction)가 발생된다. 폐쇄성 이관기능장애의 경우 급성 또는 만성 중이염으로 이어질 수 있기도 하며 이비인후과 진료에서도 흔한 질환 중에 하나다[1].

보편적인 이관기능장애 치료로는 외과적 치료, 환기관 삽입 또는 약물 등을 이용한 치료방법이 있으나, 치료 효과가 제한적이며 이관 폐쇄증, 2차 감염 및 고막의 영구적인 천공을 초래할 수 있는 문제를 가지고 있다. 이러한 문제를 해결하고자 이관 풍선 성형술 (BET, Balloon Eustachian tuboplasty)을 이용한 치료법이 대두되고 있는 추세이다. 2010년 이후 이관 풍선 성형술이 기존 치료법보다 우수하다고 보고되고 있지만, 아직까지도 일부 환자는 반응하지 않고 재발이 일어나는 문제점을 가지고 있다. 따라서 재발 위험성을 가진 환자 또는 반응하지 않는 환자들에겐 스텐트를 이관에 배치하는 것이 효과적인 치료법이라 보고되고 있다[2]. 많은 연구진들이 이관 스텐트 삽입술의 기술적 타당성과 스텐트 배치 후 조직반응을 평가하였으나, 스텐트의 반발력으로 발생하는 육아 조직 과증식 현상을 억제하는데 어려움을 겪고 있다[2]. 이러한 육아 조직 과증식은 스텐트의 원형을 유지시키기 힘들며 재협착이 발생하는 문제점을 가지고 있다. 따라서, 본 연구는 항증식제인 시롤리무스 (Sirolimus)로 코팅된 약물 용출 스텐트가 과증식 형성을 억제할 수 있을 것으로 가정했다.

약물 용출 스텐트는 혈관에서 스텐트 배치 후 조직 및 신생 내막 증식으로 나타나는 재협착을 억제하는 기능성 스텐트이다. 일반적으로 자주 사용되는 항증식제인 에버롤리무스 (Everolimus), 파클리탁셀 (Paclitaxel), 시롤리무스 (Sirolimus)

는 재협착 연속단계 (Restenosis cascade)를 억제하여 신생내막 및 육아 조직의 증식 형성을 막는다[3]. 본 연구는 그림 1. 과 같이 시롤리무스 약물 용출 코발트 크롬 스텐트 (SES, Sirolimus-eluting cobalt–chrome alloy stent)를 돼지 이관에 삽입 후 영상학적 및 조직학적 평가를 진행하여 스텐트 유발 육아 조직 과증식 현상을 억제하는지 확인했다.

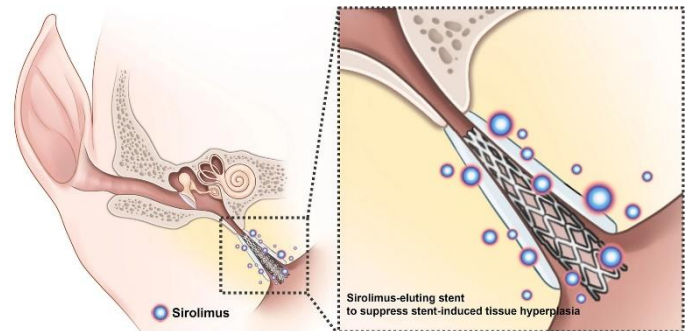


그림 1. 돼지 이관내에 시롤리무스 약물 방출 코발트-크롬 스텐트 배치 계획도

2. 연구 방법

본 실험에 사용된 스텐트는 그림 2. 와 같이 코발트-크롬 (Co–Cr) 합금으로 만들어진 풍선 확장형 스텐트 (Balloon-expandable stent)로 직경 3mm, 길이 18mm이며 스트럿의 두께는 78 μ m이다. 시롤리무스는 초음파 스프레이 기술을 사용하여 표면에 코팅하였으며 이는 초기 약물량 (1.15 μ g/mm²)의 70%를 30일 이내에 70%가 방출되도록 디자인되었다.

또한, 돼지 이관으로 스텐트가 장착된 풍선 카테터를 이동할 수 있게 금속 안내 도관 (Metallic guiding sheath)을 자체 제작하였으며, 이는 외경 2.5mm, 내경 2mm, 전체 길이 250mm를 가지고 있다. 특히 도관의 말단 30mm는 15° 각도로 휘어져 있어 비인두 구멍 (Nasopharyngeal orifice)에 접근이 용이하다.

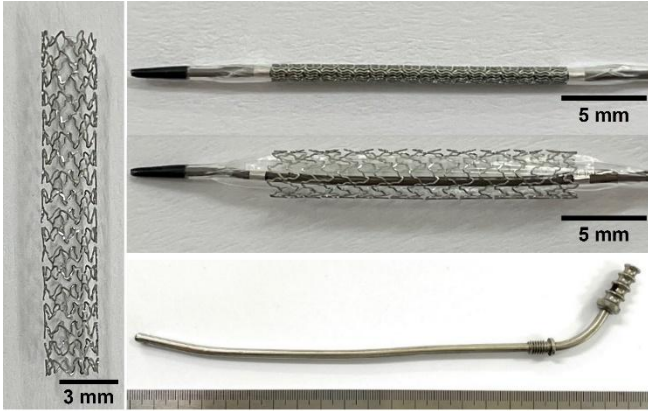


그림 2. 시롤리무스 약물 방출 코발트-크롬 스텐트 및 금속 안내 도관

본 실험은 6마리의 돼지 (Yorkshire, 3개월령, 33.8-36.4kg)의 12개의 이관을 6개씩 2그룹으로 나눴다. 실험군은 SES를 삽입했으며 대조군은 코발트-크롬 스텐트를 삽입하여 4주간 배치 후 조직학적 변화를 관찰하였다. 삽입술은 그림 3. 과 같이 진행하였다. 모든 돼지는 50 mg/kg zolazepam, 50 mg/kg tiletamine (Zoletil 50) 및 10 mg/kg xylazine(Rompun)의 혼합물을 사용하여 전신 마취를 진행했다. 또한, 기관내관을 삽입 후 0.5-2% isoflurane (Ifran)을 산소(510 mL/kg/min)와 1:1로 흡입시켜 마취를 유지했으며, 옆드린 자세에서 콧구멍을 통해 내시경 안내에 따라 금속 안내 도관을 진입시켰다. 도관을 통해 스텐트가 장착된 풍선 카테터를 밀어 넣어 이관에 삽입 후, 카테터 팁이 이관의 뼈 협부 (Isthmus) 지점에 닿을 때까지 전진시켰다. 그 후 풍선 팽창기 (Balloon inflator)의 압력이 9 기압이 될 때까지 풍선을 팽창하여 스텐트 배치를 완료하였다. 스텐트 배치가 끝난 후에 풍선 카테터 및 금속 안내 도관을 제거한 후에 내시경으로 스텐트의 배치 상황 및 주변 점막의 상태를 확인했다. 스텐트가 삽입된 모든 돼지는 삽입 전, 후와 4주 뒤에 내시경 검사를 통해 스텐트의 개통성 및 스텐트 주변 분비물 유무를 확인 후 안락사를 진행했다.

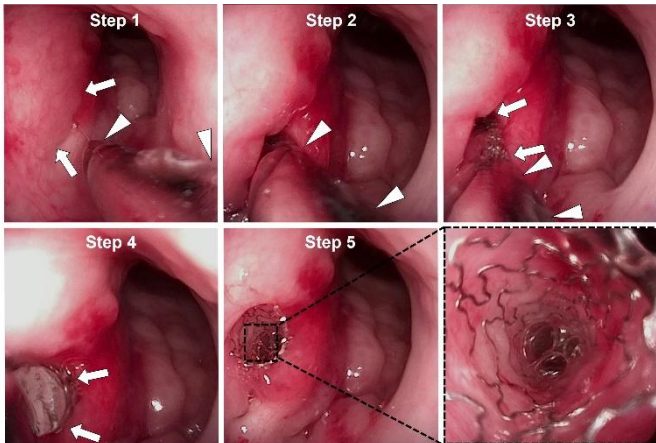


그림 3. 이관내에 스텐트 삽입 기술적 단계

조직학적 검사는 돼지 머리를 시상 방향으로 절단 후에 스텐트가 삽입된 이관 조직을 추출하여 레진 블록에 매립하였다. 슬라이드는 축방향으로 조직의 상단부와 하단부를 슬라이스하여 헤마톡실린 및 에오신으로 (Hematoxylin and Eosin staining) 염색후에 조직학적 분석을 진행하였다. 조직학적 평가는 육아 조직 과증식률 (The percentage of tissue hyperplasia ara), 점막하 섬유증 두께 (The thickness of submucosal fibrosis) 그리고 염증 세포 침윤 정도 (The degree of inflammatory cell infiltration)를 분석하여 평가했다.

3. 연구 결과

모든 스텐트는 성공적으로 이관에 배치됐다. 다만 12개의 이관 표본 중 4개(33.3%)가 시술 중에 금속 안내 도관으로 인한 점막 손상이 관찰되었으나 4주차에 저절로 치유됐다. 그림 4. 와 같이 4주차에 내시경 검사를 진행한 결과, 스텐트의 위치 이동 (Stent migration)은 관찰되지 않았지만, 모든 스텐트가 원형을 유지 못했다. 대조군 스텐트가 삽입된 모든 이관은 주변에서 분비물 및 점액의 축적이 관찰되었다. 반면에 실험군은 3개의 이관에서만(50%) 관찰되었으나 두 그룹 간의 유의미한 차이



그림 4. 스텐트 삽입 후 내시경을 통한 추적 관찰

($p = 0.182$)는 없었다.

조직학적 검사 결과는 그림 5. 와 같이 나왔다. 대조군과 비교하여 육아 조직 과증식률(그림 5. 1), 점막하 섬유증 두께(그림 5. 2)는 유의미하게 낮았으나 반면에 염증 세포 침윤 정도(그림 5. 3)는 유의미한 차이가 없었다. 본 연구 결과를 통해 시롤리무스가 이관에서도 스텐트로 인한 육아 조직 과증식 형성을 효과적으로 억제한다는 것을 입증했다. 시롤리무스 약물 용출 코발트-크롬 스텐트는 이관 기능장애를 치료하기 위한 새로운

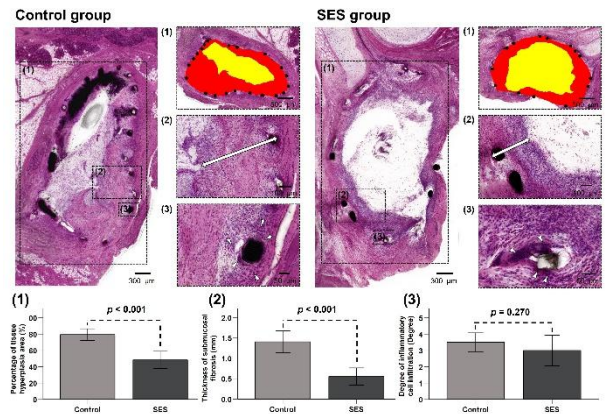


그림 5. 조직학적 분석 결과

치료 전략의 하나가 될 수 있을 것이다.

4. Acknowledgements

이 성과는 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임. (2020R1F1A1049412)

5.참고 문헌

- [1] Schilder, A G M et al. "Eustachian tube dysfunction: consensus statement on definition, types, clinical presentation and diagnosis." *Clinical otolaryngology: official journal of ENT-UK; official journal of Netherlands Society for Oto-Rhino-Laryngology & Cervico-Facial Surgery* vol. 40,5 (2015): 407-11
- [2] Kim, Y et al. "Technical Feasibility and Histological Analysis of Balloon-Expandable Metallic Stent Placement in a Porcine Eustachian Tube." *Appl. Sci.* 11,4 (2021): 1359.
- [3] Kim, K Y et al. "Sirolimus-eluting Biodegradable Poly-L-Lactic Acid Stent to Suppress Granulation Tissue Formation in the Rat Urethra." *Radiology* vol. 286,1 (2018): 140-148.