

혈관이식술 후 내막과다증식에 대한 Epigallocatechin-3-Gallate의 효과

박한기* · 박영환* · 송석원* · 이미희** · 박종철** · 주현철* · 장병철*

The Effect of Epigallocatechin-3-Gallate on Intimal Hyperplasia after Vascular Grafting

Han Ki Park, M.D.*, Young Hwan Park, M.D.*, Suk Won Song, M.D.*, Mi Hee Lee**, Jong-Chul Park, Ph.D.**, Huyn-Chul Joo, M.D.*, Byung-Chul Chang, M.D.*

Background: Intimal hyperplasia is characterized by a proliferation of vascular smooth muscle cells in the intimal layer. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) is known to suppress smooth muscle cell proliferation. We propose that EGCG may have a protective effect against the development of intimal hyperplasia through the suppression of smooth muscle cell proliferation. **Material and Method:** Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) and rat aortic smooth muscle cells (RASMC) were cultured with different concentrations of EGCG, and proliferation and migration speed were measured. In 20 dogs, the autologous jugular veins were interposed into the carotid arteries. For the study group (n=10), the graft was stored for 30 minutes in EGCG solution and 300 mM EGCG was applied to the perivascular space after grafting. After 6 weeks, the intimal and medial thickness was measured. **Result:** The proliferation of RASMC and HUVEC was suppressed with EGCG. The migration of RASMC was suppressed with EGCG, but that of HUVEC was not affected. In the *in vivo* study, the intimal thickness was thinner in EGCG group than in the control group ($p < 0.05$), but the medial thickness did not show any difference. The intimal/medial thickness ratio was lower in the EGCG group ($p < 0.05$). **Conclusion:** EGCG suppresses intimal hyperplasia after vascular grafting, and this may be mediated by prevention of migration and proliferation of vascular smooth muscle cells. The use of EGCG may offer new therapeutic modality to prevent intimal hyperplasia.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2007;40:256-263)

Key words: 1. Vascular disease
2. Intimal hyperplasia

서 론

현대사회에서는 인구 고령화와 더불어 동맥경화성 혈관 질환이 증가하고 있고 따라서 혈관중재술과 혈관수술이 증가하고 있다. 혈관수술을 위해서는 복재정맥 혹은 내흉

동맥과 같은 자가혈관 및 polyester와 polytetrafluoroethylene (PTFE)과 같은 재질의 인조혈관이 사용되고 있다. 그러나 이러한 혈관이식편도 시간이 경과하면 점차 내경이 좁아지는 양상을 보인다. 혈관 재협착의 주요한 원인은 내막과다증식(intimal hyperplasia)이다[1]. 내막과다증식은 혈관

*연세대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Yonsei University College of Medicine

**연세대학교 의과대학 의학공학교실

Department of Medical Engineering, Yonsei University College of Medicine

†본 논문의 내용은 대한흉부외과학회 제38차 추계학술대회에서 발표되었음.

‡본 논문은 보건복지부 보건과학기술진흥사업(A050082)의 지원과 우촌 박영관 학술상 연구비 보조에 의해 시행되었음.

논문접수일 : 2006년 12월 26일, 심사통과일 : 2007년 2월 8일

책임저자 : 박영환 (120-752) 서울시 서대문구 신촌동 134번지, 연세대학교 의과대학 흉부외과학교실

(Tel) 02-2228-8484, (Fax) 02-313-2992, E-mail: yhpark@yumc.yonsei.ac.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

손상에 대한 반응으로 나타나는 혈관의 구조적 변화로, 혈관 중막(media)의 평활근세포가 내막(intima)으로 이동하며 증식하고, 이와 더불어 세포외간질(extracellular matrix)이 내막에 축적되어 나타난다[2]. 이러한 일련의 과정은 혈관 내막의 두께를 두껍게 만들어 협착을 일으키며, 임상적으로는 심근 혹은 사지(limb)의 혈류장애를 일으켜 허혈에 의한 증상이 나타나게 한다. 그러므로 내막과다증식을 억제하는 것은 임상적으로 매우 중요한 의미를 가진다.

내막과다증식을 억제하기 위해 약물치료[3], 방사선조사[4] 혹은 유전자치료[5]와 같은 여러 가지 치료방법들이 연구되었다. 그러나 몇몇 방법들은 동물실험에서는 효과를 보았으나, 임상실험에서 유용한 결과를 얻어 널리 적용되고 있지는 못하다.

녹차는 다양한 약효효과를 가지고 있는 것으로 보고되고 있으며, 녹차의 polyphenol과 그 주요 성분인 epigallocatechin-3-gallate (EGCG)은 암 발생을 억제하고, 암조직에서 혈관 생성을 억제하는 효과가 있는 것으로 알려져 있다[6]. 최근에는 혈관의 기능에 미치는 영향에 대한 연구가 수행되어 녹차의 catechin 성분이 혈관 평활근세포의 증식을 억제하는 효과와[7,8] 더불어 혈관내피세포를 활성산소(reactive oxygen species)에 의한 산화스트레스(oxidative stress)로부터 보호하고[9] 내피세포의 신생혈관으로의 분화를 억제하는 효과가 있음[3]이 보고되고 있다. 따라서 EGCG가 혈관내피세포의 기능을 보존하는 효과와 내막과다증식의 발생에 주요한 역할을 하는 혈관평활근세포의 증식을 억제하는 효과를 이용한다면, EGCG가 혈관손상 후 발생하는 내막과다증식을 억제하는 효과를 나타낼 수 있을 것으로 생각된다. 본 연구의 목적은 EGCG가 혈관의 주요 구성세포인 평활근세포와 내피세포의 활동에 미치는 영향을 연구하고, 혈관이식술 후 내막과다증식에 대한 억제 효과가 있는가를 알아보는 것이다.

대상 및 방법

1) 연구 개요

EGCG가 혈관평활근세포와 혈관내피세포의 활동에 미치는 영향을 알아보기 위해 쥐 대동맥 평활근세포(rat aortic smooth muscle cell, RASM, BioBud, Seoul, Korea)와 인간 제대정맥내피세포(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC, Cambrex Bio Science Inc., Walkersville, MD, USA)를 *in vitro* 환경에서 배양하였으며, 순도 90% 이상의 EGCG (Pharma Foods International Co. Ltd., Kyoto, Japan)를

세포배양배지에 농도를 달리하여 첨가하였다. 각각 세포의 증식과 이동을 EGCG 처리를 하지 않은 대조군과 비교하여 EGCG의 영향을 연구하였다.

내막과다증식에 미치는 효과를 직접적으로 확인하기 위해 개를 이용한 동물실험을 진행하였다. 실험동물의 자가정맥을 채취하여 실험군에서는 이식편을 EGCG 용액에 처리한 뒤 경동맥에 이식하였으며, 대조군에서는 이식편을 EGCG 처리를 하지 않고 경동맥에 이식하였다. 이식 6주 후 이식편을 회수하여 내막의 두께를 측정하여 실험군과 대조군을 비교하였다.

2) *In vitro* 실험

(1) 세포 배양: HUVEC은 내피세포배지(Endothelial Cell Basal Medium-2, Cambrex Bio Science Walkersville, Inc.)에 배양하였으며, 세포배양배지에는 항생제 및 항진균제(10,000 units penicillin, 10 mg streptomycin 및 25 mg amphotericin B per mL)를 첨가하였다. RASM은 Dulbecco's modified Eagle's medium (JBI, Seoul, Korea)에 배양하였으며, 10%의 소태아혈청(fetal bovine serum) 및 항생제와 항진균제가 포함되도록 하였다. 세포배양은 37°C, 5% CO₂ 환경의 배양기에서 시행하였다.

(2) 세포증식 시험: 세포배양배지(24-well culture plate)에 2 × 10⁴ cells의 혈관내피세포와 평활근세포를 주입하여 CO₂ 배양기에서 3일간 배양하였다. 배양 전 세포배지에는 EGCG를 첨가하여 배지 내 최종 농도가 25, 50, 100, 200, 400 μM이 되도록 하였으며, EGCG를 첨가하지 않은 세포배양배지를 대조군으로 삼았다. 배양 3일 후 MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] assay를 시행하여 ELISA 판독기(Spectra Max 340, Molecular Device Co., Synnyvale, CA, USA) 이용해 570 nm에서 흡광도를 측정하는 방법으로 세포의 활성도를 측정하였고, 세포의 활성도를 세포증식의 지표로 삼았다. 각 농도의 EGCG 첨가상태에서의 세포활성도는 EGCG를 첨가하지 않은 대조군의 세포활성도와 비교하였으며, 실험은 20회 반복하여 시행하였다.

(3) 세포이동시험: 1 × 10⁵ cells/mL의 혈관내피세포와 혈관평활근세포를 세포배양배지(4-well chambered cover-glass slide) 위에 분주하여 24시간 동안 배양하였고, 세포가 배지에 빈틈없이 모든 면을 덮은 단일층을 형성한 것을 확인한 뒤 micropipette의 말단을 이용하여 단일세포층의 표면에 일직선의 물리적 손상을 가함으로써 세포가 없는 구역을 형성하였다[10]. 이후 실험군에서는 배지에 EGCG의



Fig. 1. Vascular grafting in a canine model. (A) A segment of external jugular vein was harvested and interposed into carotid artery. Arrows indicate interposed vein graft. (B) The vein graft was wrapped with a sac which was made with polytetrafluoroethylene membrane and the sac was filled with fibrin glue containing epigallocatechin-3-gallate (EGCG) for EGCG group or fibrin glue alone for control group.

농도가 $200\ \mu\text{M}$ 이 되도록 EGCG를 추가하였고, 대조군에서는 EGCG를 첨가하지 않은 채 현미경 관찰 하에서 세포 배양을 할 수 있도록 제작된 CO_2 배양기에서 세포를 배양하였다. 현미경에 부착된 카메라를 이용해 세포배양배지에서의 세포의 이동을 1분 간격으로 촬영하였고 이를 바탕으로 임의로 선정한 개개의 세포가 이동하는 실거리를 측정하였다[11]. 영상처리 프로그램(MATLAB V5.3, The MathWork Inc., Natick, MA, USA)을 이용하여 각각의 세포의 평균이동속도를 계산하였다. 하나의 세포배양배지에서 무작위로 10개의 세포를 선택하여 세포의 이동경로를 추적한 뒤 세포이동속도의 평균을 계산하였고, 실험은 20회 반복하였다.

3) In vivo 실험

(1) **혈관이식 실험:** 체중 20~25 kg의 한국산 잡견 20마리를 이용하여 실험을 시행하였으며, 실험동물은 대조군($n=10$)과 EGCG 군($n=10$)으로 무작위 분류하였다. 실험동물에 Rompun (2 mg/kg)과 Zoletil (Tiletamine/Zolazepam 1.5 mg/kg)을 정맥 내 주사하여 진신마취를 유도하였고, 흡입 마취제(enflurane 2%)로 마취를 유지하였다. 양와위 자세에서 피부소독 후 경부에 세로 절개를 하고, 경정맥을 박리하여 노출하였으며 heparin 2 mg/kg을 정맥 주사한 뒤에 이식도관으로 사용하기 위해 2개의 약 15 mm 길이의 경정맥을 절제하였다. 절제한 경정맥은 이식하기 전 30분 동안 생리식염수(대조군) 혹은 $300\ \mu\text{M}$ 의 EGCG를 포함하는 생리식염수(EGCG군)에 담가 보관하였다. 양측 경정맥에 자가 경정맥이식도관을 이식하여, 실험군과 대조군 각각에 20개씩의 정맥이식편을 이식하였다. 혈관이식편은 polypropylene 비흡수성 봉합사(Surgipro[®] 7/0)를 이용하여

연속봉합으로 단단 문합하였다(Fig. 1A). 다음 이식한 정맥도관을 두께 0.1 mm의 polytetrafluoroethylene patch (W. L. Gore & Associates, Inc., Flagstaff, AZ, USA)를 이용하여 주머니 형태로 감싸 주었고(Fig. 1B), EGCG군에서는 주머니 내부를 300 mM EGCG를 포함하는 1 mL의 fibrin glue (Greenplast[®], Green Cross Inc, Korea)로 채웠으며, 대조군은 같은 양의 fibrin glue를 채웠다.

(2) **혈관이식 조직의 회수 및 조직학적 검사:** 이식한 경정맥은 6주 후 동물을 희생한 뒤 회수하였다. 실험동물을 혈관이식수술을 시행할 때와 같은 방법으로 마취한 뒤 수술부위를 절개하여 주위조직으로부터 이식혈관을 박리하고, 이식혈관 내부를 10% buffered formalin 용액을 관류시킨 뒤 절제하였다. 절제한 경정맥이식편은 formalin 용액에 담가 고정 후, paraffin 블록을 만들고, 이식편의 중간부위 2곳에서 횡절개 표본을 만들어 hematoxylin-eosin 염색과 van Gieson elastin 염색을 시행하였다.

혈관의 단면에서 방사형으로 6곳에서 내막과 중막의 두께를 측정하였으며 내막과 중막의 두께비(intima/media thickness ratio)를 계산하여 대조군과 EGCG군을 비교하였다.

(3) **통계분석:** 수치화된 자료는 평균±표준편차로 표시하였고, 두 군 간의 비교는 t-test를 이용하여 분석하였다. p값이 0.05보다 작은 경우를 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1) 세포증식에 미치는 효과

혈관평활근세포의 경우 EGCG의 농도가 $400\ \mu\text{M}$ 이상에서 EGCG를 첨가하지 않고 배양한 혈관평활근세포에 비

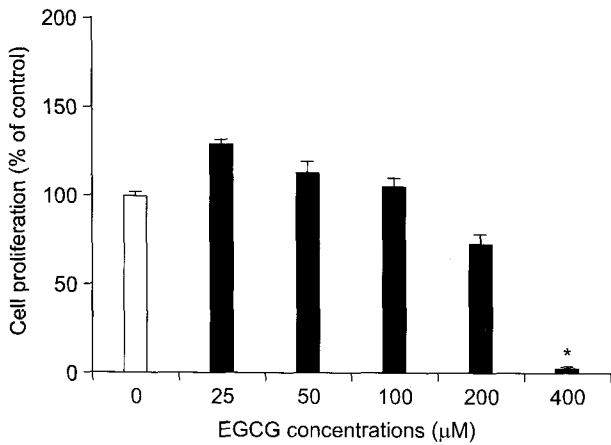


Fig. 2. The proliferation of rat aorta smooth muscle cells (% of control) treated with EGCG at concentrations ranging from 0 to 400 μ M. Experiment was repeated 20 times and data are expressed as mean \pm SD. * $p < 0.05$ versus control.

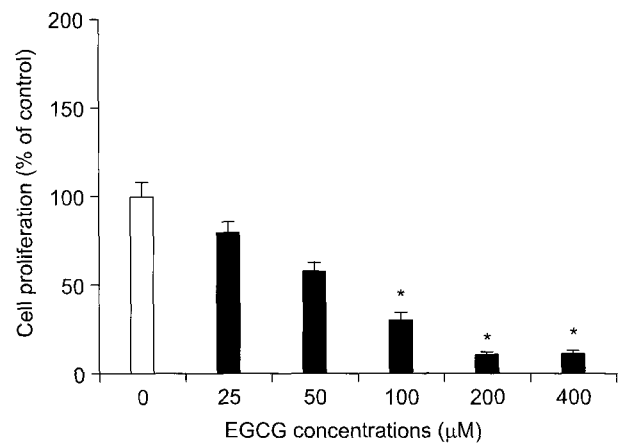


Fig. 3. The proliferation of human umbilical vein endothelial cells (% of control) treated with EGCG at concentrations ranging from 0 to 400 μ M. Experiment was repeated 20 times and data are expressed as mean \pm SD. * $p < 0.05$ versus control.

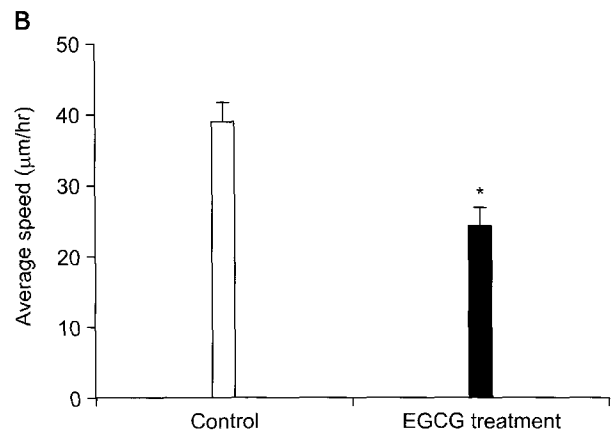
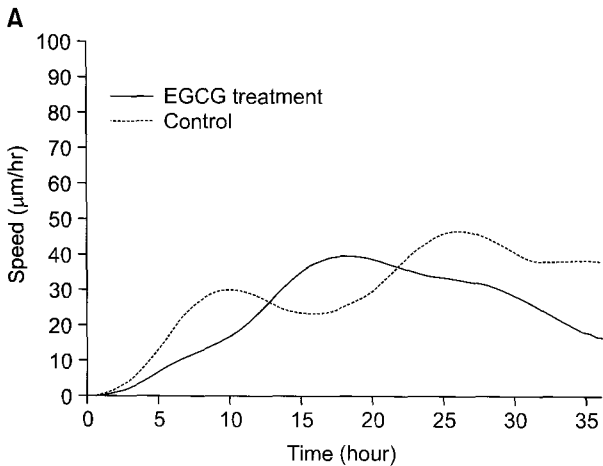


Fig. 4. Migration speed of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) treated cells (n=20) and non-treated rat aortic smooth muscle cells (n=20). (A) Real-time migration speed. (B) Average speed. * $p < 0.05$.

해 세포의 활성도가 감소하였다(Fig. 2).

혈관내피세포는 EGCG의 농도가 증가함에 따라 세포증식이 점차 감소하는 경향을 나타내었으며, 100 μ M 이상의 농도에서 대조군에 비해 유의한 세포증식억제효과를 나타내었다(Fig. 3).

2) 세포이동에 대한 효과

임의로 선정된 세포의 평균 이동속도를 측정한 결과, EGCG를 처리한 혈관평활근세포의 경우 $24.3 \pm 2.5 \mu\text{m/hr}$ 이었으나, 대조군 평활근세포의 평균 이동속도는 $38.8 \pm 3.0 \mu\text{m/hr}$ 으로, EGCG군에서 세포이동이 억제되는 양상을 나

타내었다($p < 0.05$)(Fig. 4).

이와는 달리 혈관내피세포에 대해서는 EGCG가 세포이동을 억제하는 효과를 보이지 않았다. 혈관내피세포의 평균 이동속도는 EGCG 처리군에서는 $34.4 \pm 3.4 \mu\text{m/hr}$ 이었으나, EGCG를 처리하지 않은 대조군에서는 $36.9 \pm 2.0 \mu\text{m/hr}$ 으로 이동속도에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 5).

3) 내막과다증식에 미치는 효과

모든 실험동물이 이식편을 회수할 때까지 생존하였으며, 완전 폐쇄된 정맥이식편은 없었다. 조직학적 검사에서

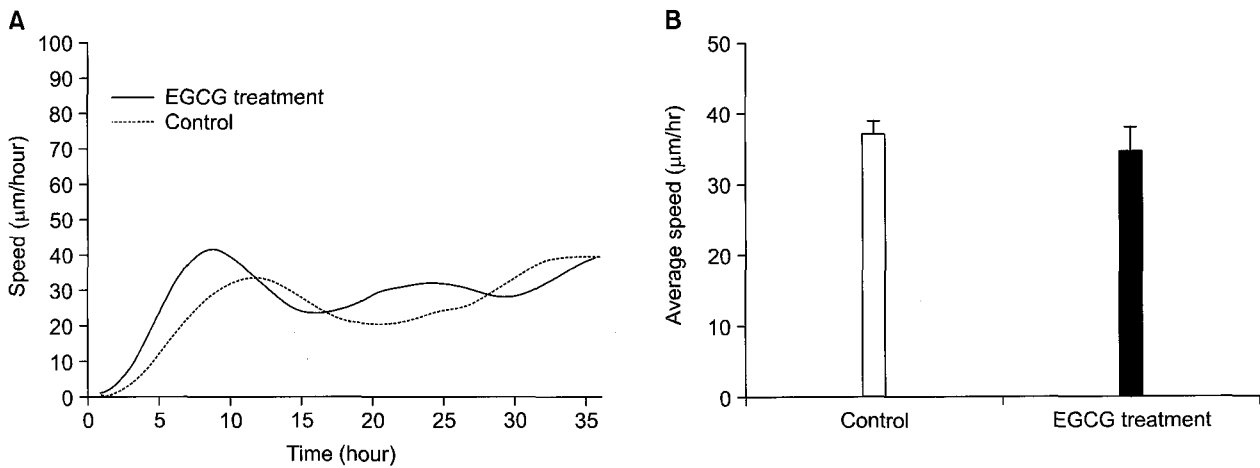


Fig. 5. Migration speed of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) treated cells (n=20) and non-treated human umbilical vein endothelial cells (n=20). (A) Real-time migration speed. (B) Average speed.

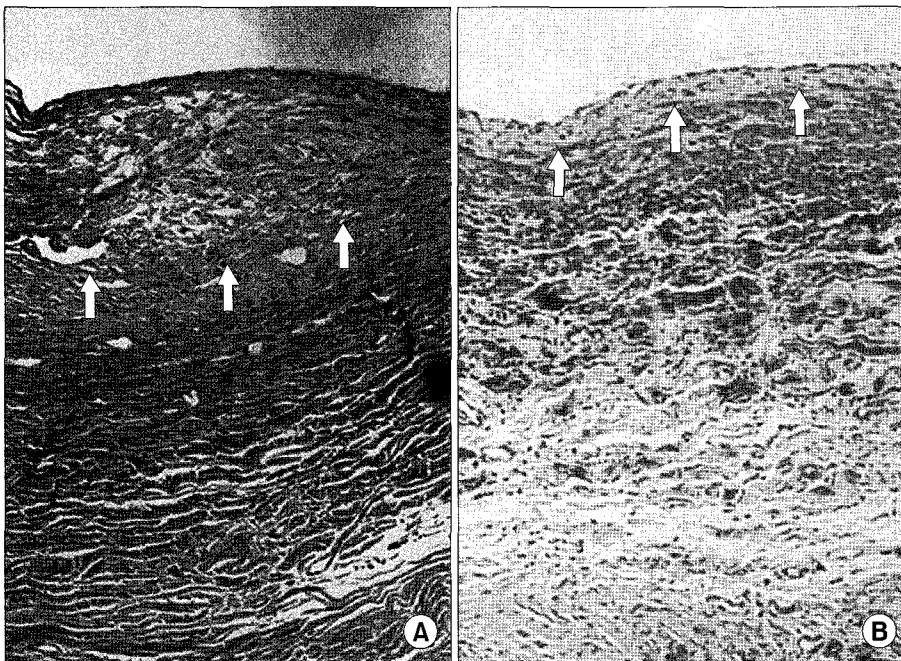


Fig. 6. Histologic examination of the vein grafts. (A) Control group, (B) EGCG group. Arrows indicate intimal borders (van Gieson elastin stain, $\times 100$).

회수한 자가정맥이식편의 안쪽 면은 내피세포로 덮여 있었으며, 대조군과 EGCG군 모두에서 다양한 정도의 내막과다증식이 관찰되었다(Fig. 6). 그러나 대조군에 비해 EGCG군에서 내막의 두께가 얇았으며(95 ± 43 vs. 47 ± 37 μm , $p < 0.05$)(n=20), 중막의 두께는 두 군 간에 차이를 보이지 않았다(247 ± 95 vs. 267 ± 224 μm , $p = 0.67$). 내막/중막 두께비는 대조군에서 EGCG군에 비해 낮아(0.41 ± 0.17 vs. 0.21 ± 0.15 , $p < 0.05$), EGCG가 내막증식을 억제하는 효과를 나타내었다.

고 찰

내막과다증식은 혈관수술 혹은 혈관중재술 후 나타나는 협착의 주요한 원인이다. 이는 혈관의 가장 안쪽 층인 내막에 세포가 증식하고, 세포외결체조직이 축적해 두꺼워지는 것으로, 인체 내에서 자연적인 현상의 하나로 나타나며, 동맥관이 출생 후 자연적으로 막히는 것도 이러한 기전에 의한다. 그러나 대부분의 경우 내막과다증식은

부정적인 영향을 미치게 되는데, 동맥우회로술에 사용된 동맥 혹은 정맥도관과 동정맥류 형성을 위해 이식한 정맥도관뿐만 아니라 장기이식 후 이식된 장기 내부의 혈관에서도 나타난다[12,13]. 내막과다증식의 근본적 원인은 혈관손상, 염증 혹은 혈관에 가해지는 물리적 신장과 같은 자극이며, 이와 같은 원인에 의해 내막과다증식의 일련의 과정들이 시작되어 혈관평활근세포가 내막으로 이동하고 증식하여 내막의 두께가 두꺼워지고 혈관이 좁아지는 현상이 발생하게 된다.

내막과다증식을 억제하기 위해 많은 방법들이 연구되고 있으나 아직 임상에 적용하여 효과가 입증된 방법은 없다. EGCG는 비교적 최근에 혈관평활근세포의 증식과 이동을 억제하는 효과가 있음이 밝혀졌다. Epigallocatechin이 혈관평활근세포의 증식을 억제하는 효과를 나타내는 기전이 명확히 밝혀진 것은 아니나, protein tyrosine kinase를 억제함으로써 세포 내 신호전달을 억제하기 때문인 것으로 보인다[7]. 이와 더불어 EGCG는 혈관평활근세포가 분비하는 metalloproteinase와 같은 단백분해효소의 분비를 억제하는 효과가 있음이 보고되었고[14], 이러한 효과는 평활근세포 사이의 연결을 쉽게 끊지 못하게 하고, 기저막(basement membrane)을 통과해 세포가 이동하는 것을 억제하는 효과를 나타내며 결과적으로 세포이동을 둔화시키는 것으로 보인다. EGCG가 혈관평활근세포의 증식 및 이동을 억제하면, 내막 손상 후 나타나는 내막과다증식의 일련의 과정이 억제되는 것으로 생각된다.

본 연구의 정맥도관의 이식 실험 결과는 쥐의 경동맥에 손상을 가한 후 일시적으로 경동맥에 catechin을 노출시켜 동맥 내 내막과다증식을 관찰한 Kim 등[15]의 결과와 같은 양상을 보였으며, 이를 바탕으로 EGCG는 혈관내막과다증식의 예방적 목적으로 사용될 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 인체에 사용되기 위해서는 효과적이면서도 부작용을 최소화할 수 있는 투여방법 및 용량에 대한 연구가 선행되어야 할 것이다. 녹차는 오랜 세월 동안 세계 여러 지역에서 소비되었으며, 다년간 복용해도 안전한 것으로 알려져 있다. 그러나 일반적으로 응용하는 용량이 본 연구에서 목적하는 효과를 가져올 수 있을 것인가에 대한 정보가 없으며, 전신 투여를 통해 EGCG가 약효를 나타내는 용량과 또한 고농도의 독성에 대한 연구는 미비한 상황이다. 따라서 본 연구에서는 EGCG의 전신투여를 피하는 대신 이식혈관주위에 국소적으로 투여하였다. 국소적으로 투여하는 경우에는 밝혀지지 않은 고농도의 EGCG의 전신효과를 감소시킬 수 있으리라 생각되며, 혈관손상

직후 시작되는 내막과다증식의 과정에 고농도의 EGCG가 국소적으로 즉시 영향을 줄 수 있을 것이라는 장점을 가지고 있다고 생각된다. 국소투여의 또 다른 이론적 장점은 내피세포보다 평활근세포에 높은 농도로 전달될 수 있을 것이라는 점이다. 혈관평활근세포뿐만 아니라 혈관내피세포의 증식도 EGCG에 의해 억제되었다. 혈관내피세포는 혈관수술 후 혈전을 예방하며, 혈관의 기능 유지에 매우 중요한 영향을 하므로, EGCG에 의한 영향을 최소화하는 것이 좋을 것으로 생각된다. 본 실험에서와 같은 방법으로 혈관주위에 국소적으로 도포하는 방법을 한다면 EGCG는 혈관주위로부터 확산(diffusion)에 의해 혈관 및 혈관 구성세포에 전달될 것이고 혈관의 가장 안쪽에 위치하는 내피세포보다는 혈관중막에 위치하는 평활근세포에 더 높은 농도로 전달될 것으로 생각되며, 상대적으로 내피세포의 증식에는 영향을 적게 미침으로써 혈관 이식수술 후 혈관내면의 내피세포화에는 영향이 적을 것이라고 생각된다. 그러나 이러한 사항은 이론적 추정으로, 이에 대해서는 추가적인 실험적 검증이 필요할 것이다.

혈관내막과다증식을 억제하기 위한 EGCG의 국소투여의 용량과 적용방법에 대해서도 보고된 연구결과가 없다. 이전의 실험적 자료가 없는 상태에서 본 연구에서는 300 mM의 EGCG를 국소적으로 투여하여 효과를 관찰하였으며, 내막과다증식을 억제하는 효과를 가지고 있음을 확인하였다. EGCG가 혈관평활근세포의 증식을 억제하는 효과를 가지고 있다면, 다른 세포의 증식에도 영향을 가지고 있으리라 생각되며 따라서 창상치유를 지연시킬 가능성도 있다. 본 동물실험에서 연구자들이 관찰한 바로는 EGCG를 투여한 실험군 중 2마리에서 수술 창상이 벌어지는 현상(dehiscence)이 관찰되었으나, 재봉합 후 창상이 치유되었다. 창상치유에 미치는 영향을 판단하기에는 본 실험에 사용된 개체의 수가 작아, EGCG가 수술창상 치유에 영향을 미친다고 결론지을 수는 없으나 고농도의 EGCG가 다른 세포의 활성화에 미치는 영향과 창상치유의 과정에 미치는 영향이 연구되어야 할 것으로 생각된다.

본 연구결과를 살펴보면 혈관평활근세포보다 혈관내피세포의 세포증식이 더 낮은 농도에서 억제되는 양상을 나타내었다. 혈관내피세포는 혈전의 형성을 방지하며, 혈관 확장물질을 분비하는 등 혈관기능 유지에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 혈관내피세포의 기능이 EGCG에 의해 영향을 받는다면 EGCG가 내막과다증식은 억제하더라도 혈관이식편의 기능을 저하시키고, 개통률에 부정적 영향을 미칠 가능성을 배제할 수 없다. 그러므로 본

연구에서 EGCG가 내막과다증식의 억제효과를 가지고 있는 것이 입증되었다 하더라도 임상에 적용하기 위해서는 내피세포의 기능장애를 최소화하면서도 내막과다증식을 효과적으로 차단할 수 있는 EGCG의 투여 방법 및 용량에 대한 연구가 선행되어야 할 것이다.

국소적으로 약물을 적용하는 경우에 고려해야 할 또 다른 사항은 약물 효과의 지속시간이다. EGCG는 수용성이므로 국소적으로 투여하는 경우 빠른 시간 안에 주위 조직을 통해 흡수되고, 따라서 적용 직후에만 일시적으로 약효를 나타낼 것이다. Kim 등[15]은 쥐의 경동맥손상 모델에서 catechin을 혈관 내에 20분간 저유(retention)시킨 것으로 동맥 내막증식을 억제할 수 있다고 보고하였다. 그러나 혈관 손상 후 발생하는 혈관복구 및 내막증식의 과정은 수주 이상의 시간에 걸쳐 진행하게 되므로, 혈관 손상 초기에 일시적으로 약물을 적용하는 것보다는 약물이 천천히 방출되어 효과를 지속시킬 수 있도록 본 연구에서는 EGCG를 fibrin glue에 섞어 도포하는 방법을 적용하였다. EGCG를 생분해고분자화합물에 첨가하여 약물이 방출되는 시간을 조절함으로써 국소적으로 장기효과를 나타낼 수 있는 방법을 향후 연구할 계획이다.

본 연구에서는 EGCG가 내막과다증식을 억제하는 효과가 증명되었다. 그러나 내막과다증식의 억제를 위한 적절한 약물의 용량 및 투여 방법을 확립하기 위해서는 추가적인 연구가 수행되어야 할 것이다. 또한 좀 더 장기적인 효과에 대한 검증도 필요할 것으로 생각된다.

결 론

본 연구에서 EGCG는 혈관수술 후 내막과다증식을 억제하는 효과를 나타내었으며, 이러한 효과는 혈관평활근 세포의 증식 및 이동을 억제함에 기인한다고 생각된다. EGCG의 이러한 효과를 이용하면 혈관수술 후 이식편의 협착 및 폐쇄를 유발하는 내막과다증식을 억제함으로써 이식편의 개통률을 증가시키는 중요한 치료방법의 개발이 가능할 것이다.

참 고 문 헌

1. Goldman S, Zadina K, Krasnicka B, et al. *Predictors of graft*

patency 3 years after coronary artery bypass graft surgery. J Am Coll Cardiol 1997;29:1563-8.

2. Gibbons GH, Dzau VJ. *The emerging concept of vascular remodeling.* N Engl J Med 1994;330:1431-8.

3. Singh AK, Seth P, Husain MM, et al. *Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate inhibits angiogenic differentiation of human endothelial cells.* Archiv Biochem Biophys 2002; 401:29-37.

4. Ishiwata S, Robinson K, Chronos N, et al. *Irradiation and postangioplasty restenosis.* Jpn Heart J 2000;41:541-70.

5. Hata JA, Petrofski JA, Schroder JN, et al. *Modulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling reduces intimal hyperplasia in aortocoronary saphenous vein grafts.* J Thorac Cardiovasc Surg 2005;129:1404-12.

6. Cao Y, Cao R. *Angiogenesis inhibited by drinking tea.* Nature 1999;398:381.

7. Lu LH, Lee SS, Huang HC. *Epigallocatechin suppression of proliferation of vascular smooth muscle cells: correlation with c-jun and JNK.* Br J Pharmacol 1998;124:1227-37.

8. Ahn HY, Hadizadeh KR, Seul C, et al. *Epigallocatechin-3 Gallate selectively inhibits the PDGF-BB-induced intracellular signaling transduction pathway in vascular smooth muscle cells and inhibits transformation of sis-transfected NIH 3T3 fibroblasts and human glioblastoma cells (A172).* Mol Biol Cell 1999;10:1093-104.

9. Rah DK, Han DW, Baek HS, et al. *Prevention of reactive oxygen species-induced oxidative stress in human microvascular endothelial cells by green tea polyphenol.* Toxicol Lett 2005;15:269-75.

10. Basu A, Kligman L, Samulewicz S, et al. *Impaired wound healing in mice deficient in a matricellular protein SPARC (osteonectin, BM-40).* BMC Cell Biology 2001;2:15-23.

11. Son HJ, Bae HC, Kim HJ, et al. *Effects of [beta]-glucan on proliferation and migration of fibroblasts.* Current Applied Physics 2005;5:468-71.

12. Dilley RJ, McGeachie JK, Prendergast FJ. *A review of the histologic changes in vein-to-artery grafts, with particular reference to intimal hyperplasia.* Arch Surg 1988;123:691-6.

13. Angelini GD, Newby AC. *The future of saphenous vein as a coronary artery bypass conduit.* Eur Heart J 1989;10:273-80.

14. Cheng XW, Kuzuya M, Sasaki T, et al. *Green tea catechins inhibit neointimal hyperplasia in a rat carotid arterial injury model by TIMP-2 overexpression.* Cardiovasc Res 2004;62: 594-602.

15. Kim DW, Park YS, Kim YG, et al. *Local delivery of green tea catechins inhibits neointimal formation in the rat carotid artery injury model.* Heart Vessels 2004;19:242-7.

=국문 초록=

배경: 혈관내막과다증식은 혈관평활근세포가 내막에서 과다증식하여 나타나며, epigallocatechin-3-gallate (EGCG)는 혈관평활근세포의 증식을 억제하는 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 EGCG는 혈관내막과다증식을 억제할 수 있을 것으로 생각된다. **대상 및 방법:** 다른 농도의 EGCG를 포함한 배양 배지에서 인간제대정맥내피세포(HUVEC)와 쥐대동맥평활근세포(RASMC)를 배양하고, 세포증식과 이동속도를 측정하였다. 20마리의 개의 양측 경동맥에 자가경정맥을 이식하였으며, 실험군(n=10)에 대해서는 정맥도관을 이식 전 30분간 EGCG 용액에 보관하였으며, 이식 후 300 mM의 EGCG를 혈관주위에 도포하였다. 6주 후에 경정맥이식편의 내막과 중간막의 두께를 측정하였다. **결과:** 내피세포와 혈관평활근세포의 증식은 EGCG에 의해 억제되었다. 혈관평활근세포의 이동성은 EGCG에 의해 억제되었으나, 내피세포의 이동성은 영향을 받지 않았다. 동물실험 결과 대조군에 비해 EGCG군에서 내막의 두께가 얇았으며($p < 0.05$), 중간막의 두께는 두 군 간에 차이가 없었고, 내막/중간막의 두께비는 EGCG군에서 낮게 관찰되었다($p < 0.05$). **결론:** EGCG는 혈관수술 후 혈관내막과다증식을 억제하는 효과가 있으며, 이는 혈관평활근세포의 증식 및 이동을 억제하여 효과를 나타낸다고 생각된다. 따라서 EGCG는 혈관내막과다증식을 예방하는 치료에 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

- 중심 단어 : 1. 혈관질환
2. 내막과다증식