

펙틴/CMC 드레싱의 세가지 유형별 창상에서의 치유효과

임현주 · 김학태* · 오은정 · 최진현 · 김한도 · 편도기**** · 이수복**** · 정동준** · 정호윤*†

경북대학교 기능물질공학과, *경북대학교 의학과 성형외과,

성균관대학교 고분자시스템공학과, * (주) 티엔엘 기술연구소, **** 텍산메드테크(주) 기술연구소

(2010년 2월 16일 접수, 2010년 3월 10일 수정, 2010년 3월 17일 채택)

Effect of Newly Developed Pectin/CMC Dressing Materials on Three Different Types of Wound Model

Hyun Ju Lim, Hak Tae Kim*, Eun Jung Oh, Jin Hyun Choi, Han Do Ghim,
Do Gi Pyun****, Soo Bok Lee****, Dong Jun Chung**, and Ho Yun Chung*†

Kyungpook National University, Department of Advanced Organic Materials Science and Engineering,
1370 Sankyuk-dong, Buk-gu, Daegu 702-701, Korea

*Kyungpook National University, School of Medicine, Department of Plastic & Reconstructive Surgery,
50 Samduk 2-ga, Jung-gu, Daegu 700-721, Korea

**Sungkyunkwan University, Department of Polymer Science and Engineering,
300 Chunchun-dong, Jangan-gu, Suwon, Gyeonggi-do 440-746, Korea

*** T&L Ltd., Tongsam-ri, Namsa-myun, Chuin-gu, Youngin, Gyeonggi-do 449-884, Korea

**** R&D Center of Texanmedtech. Co., Ltd., 1700-4 Jeongwang-dong, Ciheung, Gyeonggi-do 429-450, Korea

(Received February 16, 2010; Revised March 10, 2010; Accepted March 17, 2010)

초록: 창상 회복에 있어 적절한 산성의 환경은 세균의 증식을 막을 뿐만 아니라 세포의 활성도를 증가시키고 섬유아 세포의 증식을 촉진시키며 배열을 고르게 유지하여 결국 성숙된 상피화를 가져오게 된다. 본 연구에서는 펙틴과 CMC의 다양한 조성으로 이루어진 드레싱제를 이용하여 펙틴과 CMC의 조성비와 이에 따른 pH의 변화가 신선창상, 감염창상 및 화상에 있어 창상치유속도, 상피화 정도 및 콜라겐 침착 등에 미치는 영향과 이의 새로운 드레싱 재료로서의 가능성을 알아보기 위해 동물실험을 시행하였다. 실험 결과로부터 pH 4.67인 펙틴/CMC=16/19 군이 급성창상의 창상 회복에 있어 창상의 수축률, 치유율 및 상피화율이 다른 군에 비해 높은 정도를 보여 가장 우수한 창상 치유 효과를 보임을 알 수 있었다.

Abstract: Adequate acidic environment in wound healing prevents the inflammation of virus, increases the cell activity, promotes cell proliferation and regular rearrangement of fibroblast, and results in matured epithelialization. In this study, we prepared dressing materials consisting of pectin and carboxymethyl-cellulose (CMC) with varied ratios. These dressing materials showed different pH values according to the composition ratio. The effect of acidity of pectin/CMC dressing materials on wound healing rates, degree of epithelialization, collagen deposition, and so on, in 3 types of wound models (fresh surgical wounds, 3rd degree burn wounds, and infection wounds) were investigated by animal tests. From the results of wound contraction, wound healing, and epithelialization, it can be deduced that dressing material having pectin/CMC ratio of 16/19 (pH 4.67) is most effective among the 3 types of wound models.

Keywords: pectin/CMC, wound healing, dressing materials.

서 론

1825년 Braconnot에 의해 분리되고 기술된 펙틴(pectin)은 식물의 세포벽을 구성하는 중요한 성분으로 가장 복잡한 다당류 복합체 중의 하나이며, 골지체에서 합성되어 식물의 성장, 발달, 형태발

달, 방어 신호전달, 성장인자 및 효소역할을 한다. 펙틴은 현재 음식물의 안정성, 면역반응 자극제, 생분해성의 의료용품, 약물 수송체 등으로 활용되며, 산성 환경에서 젤화를 일으킬뿐 아니라 수용성기와 만나 산성을 띠는 특징을 가지고 있다.¹ 또한 Liu 등은 펙틴과 poly(vinyl alcohol) (PVA)을 결합시켜 지지체로 사용하는 연구도 보고된 바 있다.² Carboxymethylcellulose(CMC)는 셀룰로스에서 유래한 음이온의 수용성 중합체로서, 친수성과 결합하

†To whom correspondence should be addressed.
E-mail: hy-chung@knu.ac.kr

여 중성을 띠는 특성을 가진다.³ 이와 같은 특성은 Cho 등에 의해 CMC와 PVA를 가교반응에 의해 조합함으로써 인공연골 대체물을 제조하는 연구에도 응용된 바 있다.⁴

창상(wound)이란 신체의 일부가 손상되는 것을 의미하며 손상된 조직을 복구하는 창상치유는 많은 요소들의 유기적 상호 작용을 통하여 이루어진다.⁵ 창상의 치유 과정은 일반적으로 염증단계, 증식단계 및 성숙단계의 3단계로 구분할 수 있으며, 각 단계는 모든 창상에서 공히 관찰된다. 이와 같은 창상의 치유 단계는 확실한 구분 없이 중첩되면서 연속적으로 진행되는 특징을 갖는다.

일반적으로 피부의 pH 지수는 4에서 6 정도의 산성으로 유지되는데, 각질층과 피부 내층으로부터 나오는 아미노산, 지방산 및 락트산은 피부를 약산성으로 유지시켜 주며 외부 물질에 대해 보호장벽 역할을 한다.⁶ 그러나 창상의 경우 화농, 삼출물, 괴사성 조직 및 세균에 의해 pH지수가 달라지게 되며 이에 따라 창상의 회복 거동이 영향을 받게 된다. 일반적으로 이상적인 드레싱 재료는 창상의 외부 노출을 차단하여 감염을 예방하며 초기 삼출물을 적절히 흡수하여야 하고 염증반응을 억제할 수 있어야 한다. 특히, 급성 창상에서는 pH지수가 초기에는 약산성을 띠게 된다. 이는 콜라겐이 생성되는 과정에서 락트산과 같은 산성 물질이 증가하기 때문이다. 또한, 화농, 삼출물 및 괴사성 조직 등도 산성 환경을 제공하는 원인이 된다. 이와 같은 급성창상 초기의 산성환경은 세균 증식을 억제하며 헤모글로빈과 산소의 친화력을 낮추어 세포의 가용 산소량을 증가시키는 순작용을 한다. 더욱이 산성환경에서는 DNA의 합성이 증가하고 섬유아세포 증식 및 세포 이동이 촉진된다. pH지수가 낮을수록 분해효소의 가수분해활성은 떨어지며 이로써 결합조직과 표피층의 재조합에 유리한 환경이 조성된다.^{7,8}

본 연구에서는 수용성과 결합하여 산성환경을 조성하는 특성을 갖는 펙틴을 CMC와 다양한 비율로 혼합하여 창상치유 드레싱으로 적용함으로써 드레싱제의 pH를 조절하고 이에 따른 신선창상, 감염창상 및 화상에 있어 창상치유 과정 특히, 창상치유 속도 및 상피화 정도, 콜라겐 침착 등에 미치는 영향과 새로운 드레싱 재료로서의 가능성을 알아보고자 하였다. Dewey에 의해 CMC, 펙틴, agar gum 및 고분자량 왁스 등을 흡수시트로 이용한 드레싱제의 적용이 보고된 바 있으나,⁹ 본 연구에서와 같이 펙틴과 CMC의 혼합 드레싱제의 효능에 관한 연구보고는 아직까지 알려지지 않았다.

실 험

드레싱 제조. 실험에 사용된 펙틴/CMC 드레싱은 친수성 고분자인 펙틴과 CMC를 성분비에 따라 4개의 실험군으로 사용하였다. 실험에 사용된 펙틴/CMC의 조성은 Table 1에 보인다. 점착부여제를 사용하였고 연화제로 mineral oil(MO)을 사용하였으며, 항균제로 나노실버항균제인 Biocera를 사용하였다. 소수성 고분자 매트릭스에 친수

Table 1. Pectin/CMC Composition Ratios

| Group | Pectin/CMC | Measured pH |
|-------|------------|-------------|
| A | 0/35 | 6.59 |
| B | 1/34 | 6.19 |
| C | 16/19 | 4.67 |
| D | 35/0 | 3.81 |

성 하이드로콜로이드 미립자가 분산되어 있는 형태를 제조하기 위하여 탄성력과 점착력을 부여하는 점착부여제로 rosin ester를 이용하였다. 매트릭스의 유연성을 부여하기 위하여 MO를 open kneader를 사용하여 150 °C에서 균일하게 혼합한 후 온도를 100 °C로 낮추고 흡수성을 부여할 수 있는 친수성 고분자인 펙틴, CMC를 넣고 20분 동안 혼합하여 하이드로콜로이드 점착체를 제조하였다. 이어서 프레스링 작업을 거치며 일정한 두께(0.5 mm)로 성형한 후 폴리우레탄 필름(두께: 25 µm)을 적층시켜 하이드로콜로이드 드레싱을 제조하였다. 제조된 하이드로콜로이드 드레싱을 밀봉 포장하여 25 KGy 감마선 조사하여 멸균 처리하였다. ISO 10993-12 7.3.3의 비고사항에 준하여 각각의 실험군을 공 시험액에 37 °C에서 72시간 용출실험을 시행하여 용출물의 pH를 측정하였다. 창상치유에 있어 영향을 미치는 대표적인 인자 들로는 혈액의 공급과 조직관류를 생각할 수 있는데 특히 조직관류는 산소 분압, 온도, 습도 그리고 pH 등 환경적인 영향이 크다고 알려져 있다.^{10,11} 본 연구에서는 pH를 제외한 상기 조건을 모두 동일하게 고정함으로써 pH의 영향만을 고찰하고자 하였다.

실험방법. 체중 300~350 g의 흰색 백서(Sprague-Dawley) 60 마리를 일정한 온도 및 습도의 사육사에서 사육하여 사용하였으며 신선창상, 감염창상 및 화상 각각의 창상 생성 방법에 따라 20마리의 백서를 배분하였다.

수술 시 kg당 10 mg의 xylazine-HCL(Rompun®, Bayer Korea, Korea)과 kg당 100 mg의 ketamine-HCL(Huons ketamine-HCL®, Huons, Korea)를 복강 내에 주사하여 마취를 유지하였다. Figure 1과 같이 엎드린 자세의 백서의 털을 면도하고 소독한 후 동일한 크기 및 깊이의 전층 피부 창상을 만들었다. 모든 군에서 수술 후 7일까지는 하루에 한번씩, 7일부터 14일까지는 이틀에 한번씩, 그 이후에는 3~4일에 한 번씩 드레싱하였으며 드레싱 후 드레싱이 탈락되는 것을 방지하기 위해 몸통에 탄력붕대를 이용하여 가볍게 고정하였다.

신선창상은 40마리의 백서를 대상으로 등에 지름 2 cm의 원형의 전층 피부 창상을 4곳에 만들었다. 감염창상은 신선창상과 마찬가지로 40마리의 백서를 대상으로 등에 지름 2 cm의 원형의 전층 피부 창상을 4곳에 만든 이후 포도상구균(*Staphylococcus aureus*, ATCC 29213, 6×10^8 cells/mL)을 포함한 용액을 두 방울 점적하여 감염된 창상을 만들었다. 균주는 10% 글리세롤이 포함된 tryptic soy broth (Difco)에 넣어 -70 °C에 보관하였으며, 실험 중에는 tryptone soy

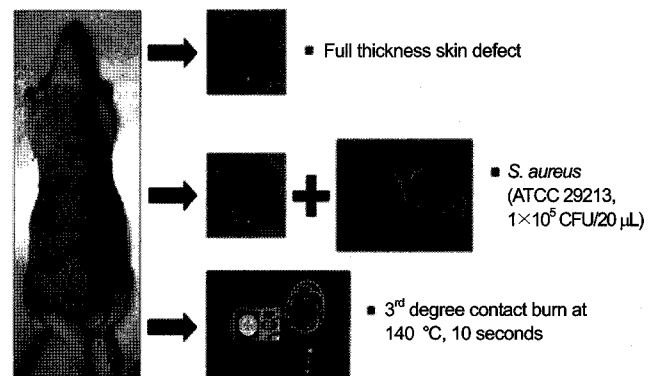


Figure 1. Photographs of 3 types of wounds made on the back of a rat.

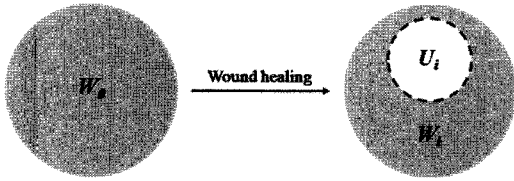


Figure 2. Method of measuring change in wound size.

agar에서 일주일 간격으로 계대 배양하였다. 화상 모델은 40마리의 백서를 대상으로 등에 지름 2 cm의 aluminum dermal block을 100 °C의 온도로 접촉시켜 3도 깊이의 화상을 유발함으로써 전층 피부 창상을 4곳에 만들었다.

실험평가. 총 60마리의 백서의 육안적 평가를 시행하였다. 수술 직후의 전층 창상의 테두리를 멸균된 X-선 필름에 본을 뜨고 그 면적을 W_0 로 정하였다. 창상유발 후 4, 6, 8, 10, 14, 17 및 21일후 광학사진을 촬영하고 수술 때와 같은 방법으로 멸균 X-선 필름에 창상면적의 본을 떴다. 특정일의 창상 중앙의 미상피 육아조직과 그 주변의 상피화로 치유된 부위를 합쳐서 본뜬 면적을 W_i 라 하고, 미상피 육아조직의 면적을 U_i 로 정하였으며(Figure 2) 이를 Image J Software (US National Institute of Health Program, USA)를 이용하여 면적을 측정하였다. 위와 같이 구한 창상의 면적을 토대로 창상치유에 따른 창상 수축률, 창상 치유율 및 창상 상피화율을 각각 식 (1), (2) 및 (3)을 이용하여 평가하였다.

$$\text{창상 수축률 (\%)} = (W_0 - W_i) / W_0 \times 100 \quad (1)$$

$$\text{창상 치유율 (\%)} = (W_0 - U_i) / W_0 \times 100 \quad (2)$$

$$\text{창상 상피화율 (\%)} = (W_i - U_i) / W_0 \times 100 \quad (3)$$

측정된 값들은 분산분석법(ANOVA test) 및 쉐퍼법(Scheffe's test)을 이용하여 평가하였다.

창상유발 후 4, 6, 8, 10, 14, 17 및 21일의 창상 전체를 적출하여 10% 중성 포르말린에 고정시키고 파라핀 포매 후 조직절편을 만들어 Hematoxylin-Eosin과 Masson's Trichrome으로 염색하여 광학현미경 하에 창상부의 염증반응, 혈관생성, 콜라겐 섬유 형성 및 재생상피를 관찰함으로써 조직학적 평가를 수행하였다.

결과 및 토론

제조된 드레싱제의 pH. 펙틴/CMC의 비율을 각각 달리한 4가지 군(Table 1) 측정 pH는 각각 A, 6.59; B, 6.19; C, 4.67; D, 3.71이었으며, 이 중 C군의 경우가 인체의 피부에서 측정되는 pH 범위와 가장 유사한 조건인 것으로 판단하였다.

신선창상에 대한 육안적 평가. 창상은 시간이 경과함에 따라 창상의 수축과 상피화가 동시에 진행되어 상피화되지 않은 육아 조직이 점점 감소하면서 창상이 치유되는 것을 관찰할 수 있었다. 창상 생성 후 6일째까지 모든 군에서 일정량의 삼출물이 배출되었으며 A군과 B군에서 상대적으로 배출량이 많았다. 드레싱 교환 과정에서 창상 표면의 손상에 의한 출혈이 관찰되기도 하였다. Figure 3은 경과 시간에 따른 창상 수축률의 변화를 보인 것이다. 창상 수축률은 창상

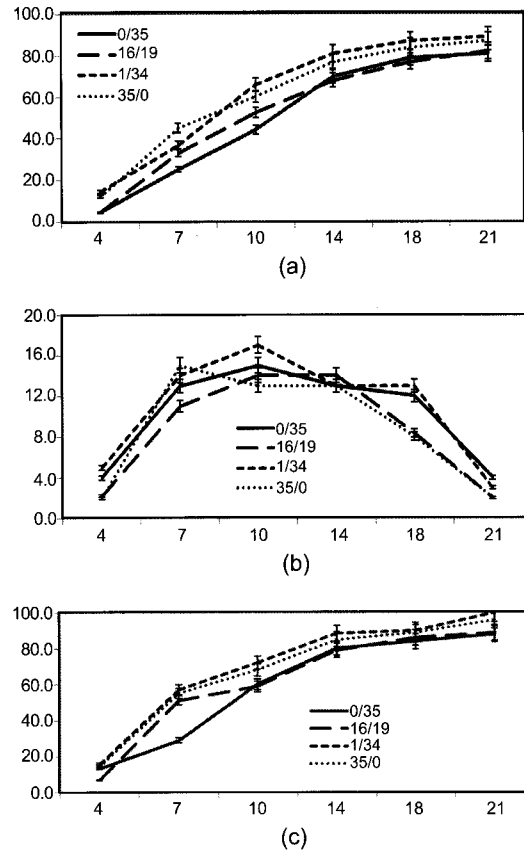


Figure 3. The mean percentage of the wound contraction rate (a); wound healing rate (b); wound epithelialization rate (c) according to processing time in the fresh wound (* $p < 0.05$).

치유 전체 과정 동안 C군과 D군에서 높게 나타났으며 이는 통계적 해석 결과로도 유의한 평가로 받아들여 졌다. 창상 치유율과 창상 상피화율은 인체의 피부와 유사한 pH를 가지는 C군에서 창상 생성 후 14일째까지 다른 군에 비해 통계적으로 유의하게 높았다($p < 0.05$).

신선창상에 대한 조직학적 평가. Hematoxylin-Eosin 및 Masson's Trichrome에 의해 염색된 조직절편의 광학현미경 사진을 각각 Figures 4와 5에 보인다. 창상 생성 후 6일째까지 모든 군에서 전층 피부 결손부 상층에 삼출물과 다핵구 및 림프구 등의 염증세포 침윤이 층을 이루어 관찰되었으며, 다른 군에 비해 B군에서 많은 염증세포 침윤을 보였다. 창상 생성 후 14일째에는 C군에서 다른 군들에 비해 콜라겐 섬유의 밀집과 규칙적인 배열이 관찰되었으며, 가장 두껍고 성숙된 재생 상피를 관찰할 수 있었다.

감염창상에 대한 육안적 평가. 감염창상 역시 신선창상과 같이 시간이 경과함에 따라 창상의 수축과 상피화가 동시에 진행되면서 창상이 치유되는 것을 관찰할 수 있었다. 창상 생성 후 9일째까지 감염에 의한 농과다량의 삼출물이 관찰되었다. Figure 6은 감염창상에 대해 경과 시간에 따른 창상 수축률의 변화를 보인 것이다. 창상 치유 과정에서 각 군간의 창상 수축률, 창상 치유율, 창상 상피화율의 차이는 육안적으로 확인되는 바와는 달리 통계적으로 유의성은 찾아보기 어려웠는데($p > 0.05$), 이는 소동물 모델을 이용한 본 연구에서 좁은 면적에 대수의 창상을 형성시킴에 따라 신선창상이 상대적으로 많은 양

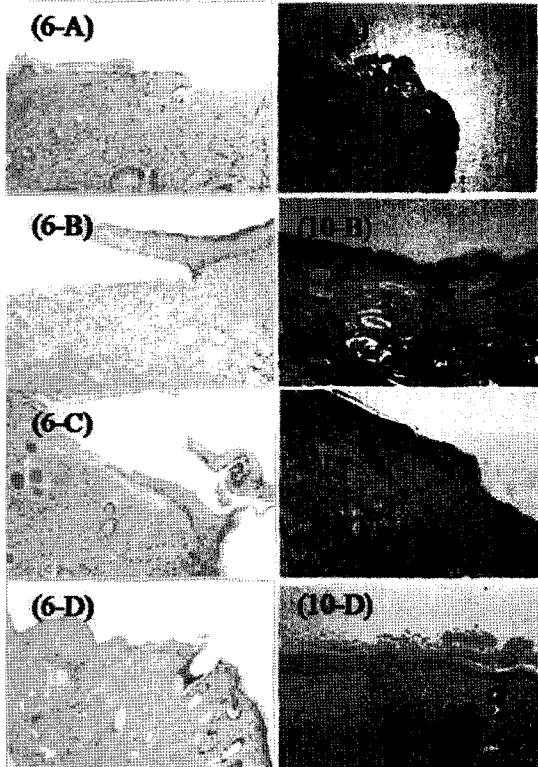


Figure 4. Optical photographs of inflammatory cell infiltration on the 6th and 10th post-operative days in the fresh surgical wound (Hematoxylin-Eosin stain, x100).

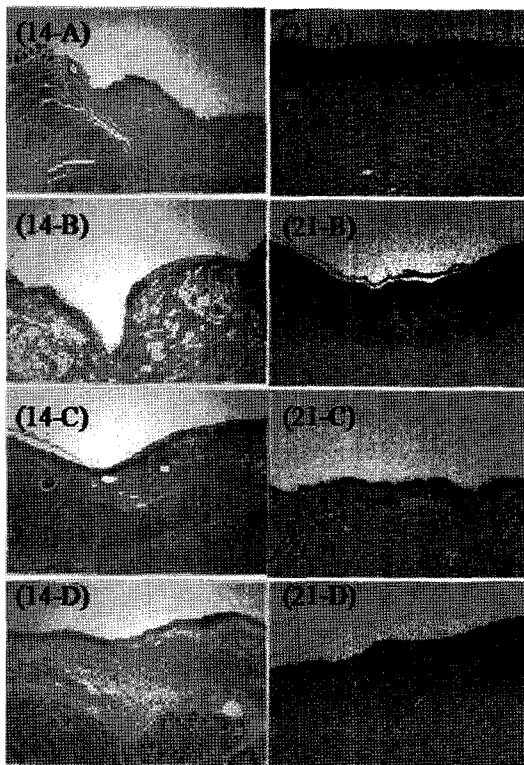
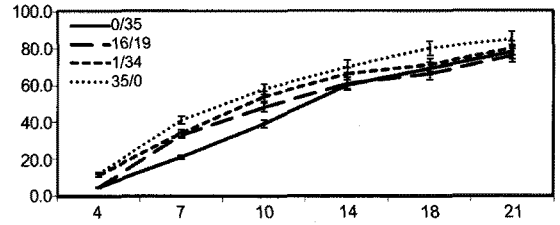
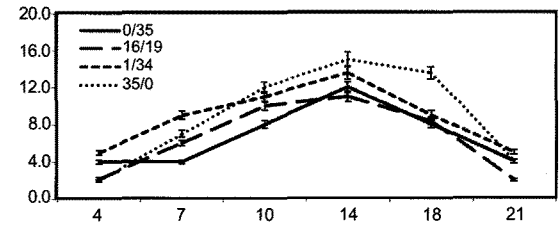


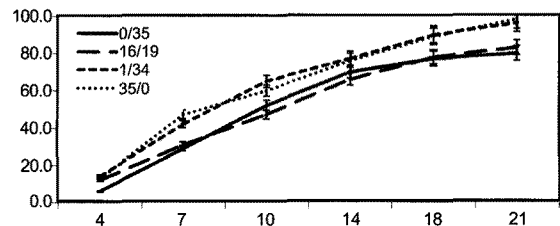
Figure 5. Optical photographs of inflammatory cell infiltration on the 14th and 21th post-operative days in the fresh surgical wound (Masson's trichrome stain, x100).



(a)



(b)



(c)

Figure 6. The mean percentage of the wound contraction rate (a); wound healing rate (b); wound epithelialization rate (c) according to processing time in the infectious wound (* $p > 0.05$).

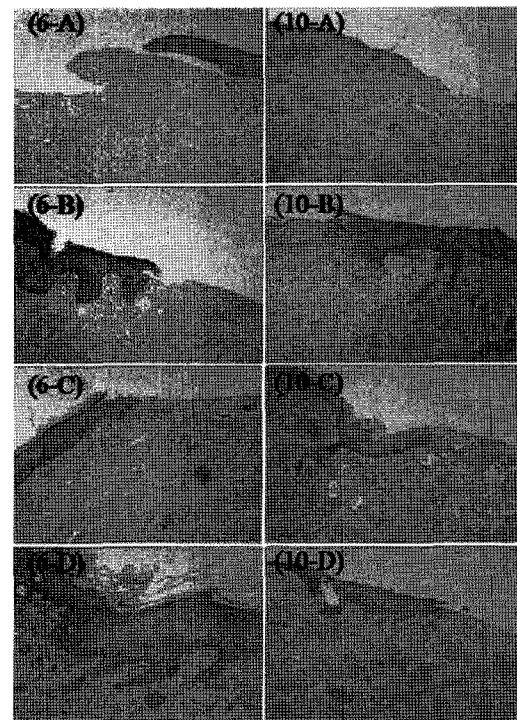


Figure 7. Optical photographs of inflammatory cell infiltration on the 6th and 10th post-operative days in the infectious wound (Hematoxylin-Eosin stain, x100).

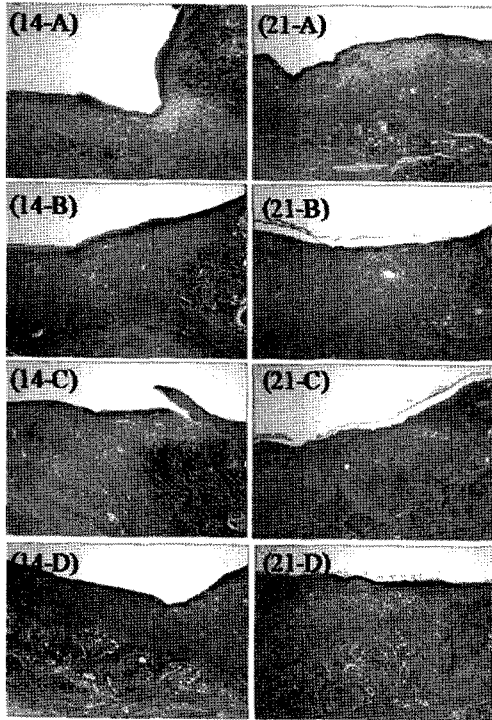


Figure 8. Optical photographs of inflammatory cell infiltration on the 14th and 21th post-operative days in the infectious wound (Masson's trichrome stain, x100).

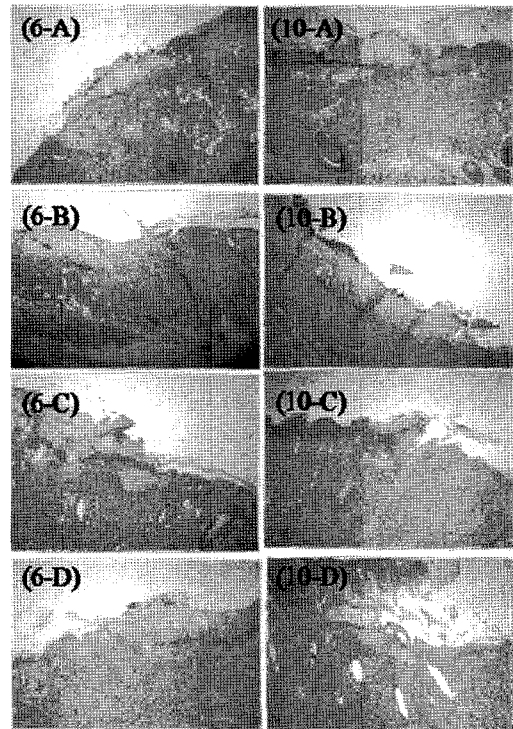


Figure 10. Optical photographs of inflammatory cell infiltration on the 6th and 10th post-operative days in the burn wound (Hematoxylin-Eosin stain, x100).

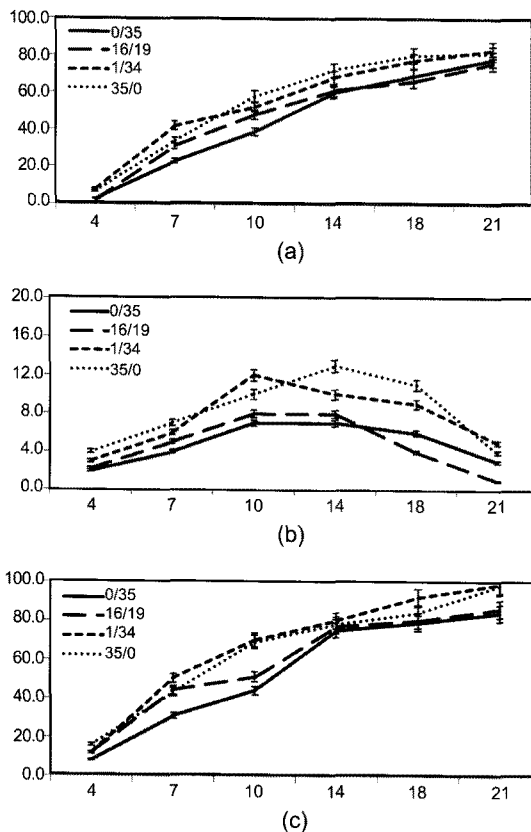


Figure 9. The mean percentage of the wound contraction rate (a); wound healing rate (b); wound epithelialization rate (c) according to processing time in the burn wound (* $p > 0.05$).

의 삼출물을 형성하는 감염창상의 영향을 받아 유의성이 상실된 것으로 판단되며, 창상의 수를 감소하여 연구를 진행함으로써 그 유의성을 확보할 수 있을 것으로 예상되었다.

감염창상에 대한 조직학적 평가. Figures 7 및 8은 각각 Hematoxylin-Eosin 및 Masson's Trichrome에 의해 염색된 조직절면의 광학현미경 사진을 보인 것이다. 창상 생성 후 6일째까지 모든 군에서 전층 피부 결손부 상층에 삼출물과 다핵구 및 림프구 등의 염증세포 침윤이 층을 이루어 관찰되었으며 다른 군에 비해 C군과 D군에서 비교적 빠른 감소를 보였다. 또한 A군을 제외한 다른 군에서 증식된 혈관이 관찰되었다. 창상 치유 완료 시점에서 D군에서 콜라겐 섬유가 가장 규칙적인 배열을 보였으며, 산성이 다른 군에 비해 강한 C군과 D군에서는 다른 군들에 비해 두껍고 성숙된 재생 상피를 관찰할 수 있었다.

회상에 대한 육안적 평가. 감염창상에 대해 경과 시간에 따른 창상 수축률의 변화를 Figure 9에 보인다. 모든 군에서 창상 생성 후 6일째까지 가피가 관찰되었으며 가피가 탈락된 후 시간이 경과함에 따라 수축되면서 상피화 되어 미상피 육아조직이 점점 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 가피가 탈락된 후 창상 생성 후 10일째까지 다량의 삼출물이 배출되었는데 C군의 경우 삼출물의 배출이 가장 적었다.

회상 역시 창상 치유 과정에서의 창상 수축률, 창상 치유율 및 창상 상피화율은 인체의 피부와 가장 유사한 pH를 갖는 C군이 다른 군에 비해 높은 모습을 보였으나 네 군간의 차이는 통계적으로 유의성을 찾기 어려웠다($p > 0.05$). 이는 감염창상의 경우와 같이 창상 모델의 빈도를 조밀하게 하였기 때문으로 판단되었다.

회상에 대한 조직학적 평가. 각각 Hematoxylin-Eosin 및 Masson's

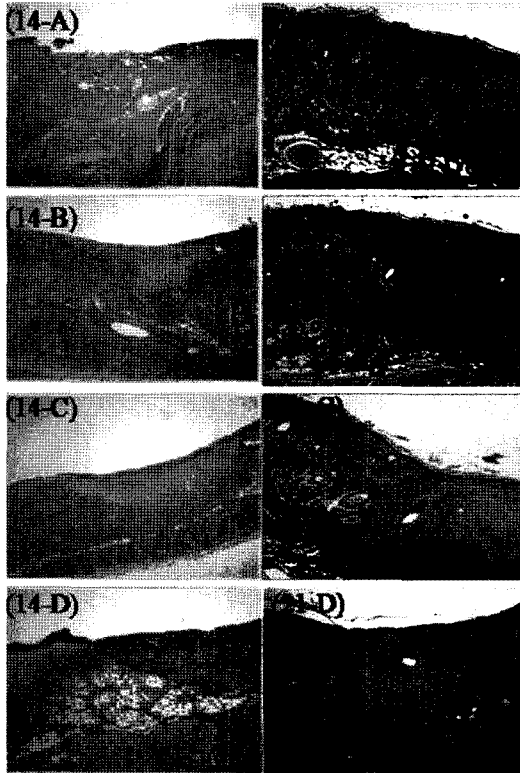


Figure 11. Optical photographs of inflammatory cell infiltration on the 14th and 21th post-operative days in the burn wound (Masson's trichrome stain, x100).

Trichrome에 의해 염색된 화상 조직절편의 광학현미경 사진을 보인 Figures 10 및 11에서 보여지는 것처럼 창상 생성 후 6일째까지 화상 상층에서 삼출물, 다핵구 및 림프구 등의 염증세포 침윤이 A군에서 가장 적게 관찰되었으며 창상 생성 후 6일째부터 A군을 제외한 다른 군에서 증식된 혈관이 관찰되었다. 창상 치유 완료 시점에서 C군에서 콜라겐 섬유가 가장 규칙적인 배열을 보였으며 재생 상피의 성숙 정도는 A군을 제외한 다른 세 군 모두 유사하였다.

결 론

본 연구에서는 펙틴/CMC의 조성비가 조절된 드레싱제를 제조하였으며 이들의 조성비로 인한 드레싱제의 pH가 창상치유에 미치는 영향을 고찰하였다. 펙틴/CMC 조합에서 pH가 4.67인 C군의 경우 모든 창상에 있어 창상 수축률, 창상 치유율 및 상피화율이 다른 조건에 비해 높은 정도를 보였다. pH 3.71인 D군의 드레싱제는 C군의 경우보다 더 낮은 pH를 보여 상대적으로 세균의 증식 억제 등은 더 좋을 것으로 예상되나 지나치게 산성의 환경이 조성되어 정상 피부의 pH인 4-6보다 더 낮은 값을 보임으로써 실제 창상 치유 효과에서는 도리어 더딘 회복효율을 보이는 것으로 판단되었다. 다만 감염창상의 경우에는 D군의 경우가 창상 치유 완료 시점에서 가장 규칙적인 배열을 보이며 두껍고 성숙한 상피화를 보였다. 이는 감염된 창상에서 C군보다 pH가 더 낮은 D군이 상대적으로 감염의 조절이 더 잘 된 것으로 보이며 낮은 pH지수에서 분해 효소의 활성이 떨어져 단백질의 가수분해력이 감소하여 결국 결합조직과 표피층의 재조합에 유리하게 작용한 것으로 사료된다. 이로부터 창상피복용 드레싱제는 인체의 피부 환경과 유사한 pH 4-5의 범위에서 가장 우수한 특성을 발현할 수 있으며 감염창상의 경우에는 좀 더 낮은 pH 환경이 창상 치유에 더 효과적인 것으로 판단하였다.

감사의 글: 본 연구는 지식경제부지원의 중기거점기술개발사업 (과제번호 No.10030020)의 지원을 받아 이루어졌습니다.

참 고 문 헌

1. M. Debra, *Plant Biology*, **11**, 266 (2008).
2. L. S. Liu, Y. J. Won, P. H. Cooke, D. R. Coffin, M. L. Fishman, K. B. Hicks, and P. X. Ma, *Biomaterials*, **25**, 3201 (2004).
3. A. Boussabir and M. Gorecki, *Polim. Med.*, **17**, 147 (1987).
4. M. S. Cho, J. C. Yang, S. H. Kim, M. S. Kim, G. S. Khang, and H. B. Lee, *Polymer (Korea)*, **33**, 551 (2009).
5. K. G. Harding, H. L. Morrisn, and G. K. Patel, *BMI*, **324**, 160 (2002).
6. K. Chikkane and H. Takahashi, *Clin. Dermatol.*, **13**, 299 (1995).
7. L. A. Schneider, A. Korber, S. Grabbe, and J. Dissemond, *Arch. Dermatol. Res.*, **298**, 413 (2007).
8. K. Tsukada, K. Tokunaga, T. Iwama, and Y. Mishima, *Wounds*, **4**, 16 (1992).
9. J. C. Dewey, US Pat. 0022961 (2010).
10. F. B. LaVan and T. K. Hunt, *Clin. Plast. Surg.*, **17**, 443 (1990).
11. J. R. Hanna and J. A. Giacobelli, *J. Foot Ankle Surg.*, **36**, 2 (1997).