

방사선 가교된 유착방지용 Carboxymethyl Cellulose/Porcine Cartilage Acellular Matrix 수화젤 필름의 물리적 특성 및 부착 방지 평가

정성린[†] · 박종석 · 권희정 · 안성준 · 송보람* · 김영직* · 민병현*.*.*.*.* · 김문석*.*.*.*.* · 임윤목[†]

한국원자력연구원 첨단방사선연구소

56212 전라북도 정읍시 금구길 29

*아주대학교 세포치료센터

16499 경기도 수원시 영통구 월드컵로 206

**아주대학교 의과대학 정형외과교실

16499 경기도 수원시 영통구 월드컵로 206

***아주대학교 분자과학기술과

16499 경기도 수원시 영통구 월드컵로 206

(2016년 11월 24일 접수, 2017년 1월 4일 수정본 접수, 2017년 1월 9일 채택)

Radiation-Crosslinked Carboxymethyl Cellulose/Porcine Cartilage Acellular Matrix Hydrogel Films to Prevent Peritoneal Adhesions with physical properties and anti-adhesivity

Sung In Jeong[†], Jong-Seok Park, Hui-Jeong Gwon, Sung-Jun An, Bo Ram Song*, Young Jick Kim*, Byoung Hyun Min*.*.*.*.*, Moon Suk Kim*.*.*.*.* and Youn-Mook Lim[†]

Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, 29, Geumgu-gil, Jeongeup, Jeonbuk, 56212, Korea

*Cell Therapy Center, Ajou University Medical Center, 206, World cup-ro, Yeongtong-gu, Suwon, Gyeonggi, 16499, Korea

**Department of Orthopedic Surgery, Ajou University School of Medicine, 206, World cup-ro, Yeongtong-gu, Suwon, Gyeonggi, 16499, Korea

***Department of Molecular Science and Technology, Ajou University, 206, World cup-ro, Yeongtong-gu, Suwon, Gyeonggi, 16499, Korea

(Received 24 November 2016; Received in revised form 4 January 2017; accepted 9 January 2017)

요 약

본 실험은 방사선을 이용하여 유착방지용 Carboxymethyl cellulose sodium salt (CMC)/Porcine Cartilage Acellular Matrix (PCAM) 수화젤 필름에 대해 연구하였다. 방사선 조사시 CMC/PCAM의 농도 및 혼합비율에 따른 필름의 형태학적 구조, 젤화율, 젤강도, 팽윤도 등을 분석하였다. 방사선에 의해 가교된 CMC/PCAM 필름은 CMC 필름보다 물리적인 특성인 젤화율이 낮게 측정되었다. 또한, 가교된 CMC 필름보다는 CMC/PCAM 필름에서 인간 혈관내피세포의 부착 및 증식율이 감소하였다. 우리는 PCAM에 함유한 세포의 항부착 성분이 도입된 CMC/PCAM 필름과 CMC 필름은 세포의 집착 및 증식율을 낮추는 것을 확인하였다. 결론적으로, 본 연구에서는 방사선 가교된 CMC/PCAM 수화젤 필름은 유착방지 향상을 위한 유착방지제로서 응용이 기대된다.

Abstract – In this study, intermolecular crosslinked carboxymethyl cellulose sodium salt (CMC) and porcine Cartilage Acellular Matrix (PCAM) blended hydrogel films for anti-adhesive barriers were prepared by gamma-ray radiation. The effects of the CMC/PCAM concentration and blending ratio on the morphology, gel fraction, gel strength, and degree of swelling were determined. The results indicated that crosslinked CMC/PCAM films show significantly lower the gel-fraction than CMC films. The degree of attachment and proliferation of human vascular endothelial cells on CMC/PCAM films was lower than the CMC films. We show the capacity of the CMC and PCAM to be hydrogel films, and the ability to reduce cell adhesion and proliferation on these films by modification with cell anti-adhesion molecules of PCAM. In conclusion, this study suggests that radiation cross-linked CMC/PCAM hydrogel films endowed with anti-adhesion ligands may allow for improved regulation of cell anti-adhesion behavior for prevent peritoneal adhesions.

Key words: Carboxymethyl cellulose sodium salt, Porcine cartilage acellular matrix, Hydrogel, Gamma-ray radiation, Crosslinking, Anti-adhesive barriers

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: sijeong@kaeri.re.kr, ymlim71@kaeri.re.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서 론

장기 유착의 원인은 외과 수술 부위에 치유과정 중에 정상적으로 침착 하는 섬유소가 분해되지 않고 남아서 지지체 역할을 하게 되고, 이를 통해 혈관이 유입되어 영구적인 섬유조직으로 남아서 발생된다. 이러한 혈전 생성과 분해에 관련된 인자들이 불균형으로 인하여 피브린 매트릭스가 분해되지 않고, 결국 분해되지 않은 피브린은 섬유아세포의 증식과 신생혈관 유입을 위한 지지체로 작용되어 주변 조직과의 유착으로 발전하게 된다[1]. 따라서, 유착방지제 개발에 있어서 충족되어야 할 조건은 물리적 장벽으로 막아 상처부위를 감싸거나 덮어주어 상처부위와 주변 조직과의 접촉을 차단하면서 안전하고 효과적으로 염증반응이나 면역 반응을 일으키지 않아야 된다[2]. 또한, 일정 기간이 지난 후에는 분해 또는 흡수되어 별도의 제거 없이 신진대사를 통해 배출되어야 한다. 마지막으로 섬유아세포의 증식과 신생혈관 유입을 막을 수 있는 성분이 함유된 멤브레인 막 형태의 유착방지제 개발이 필요하다.

현재 상업화된 유착방지제는 합성고분자인 폴리(비닐 알코올), 폴리(에틸렌 글리콜)과 천연고분자인 히알루론산, 피브린, 콜라겐, 알긴산, 소듐 카르복시메틸셀룰로오스(carboxymethyl cellulose, CMC) 등이 있다[3-5]. 최근 연구결과에 따르면 연골조직에서 세포를 제거하고 남은 세포외기질은 이미 유착방지제로 사용 중인 히알루론산과 콜라겐이 함유되어 있을 뿐 아니라 세포의 부착을 방지하는 Lubricin, Biglycan, Decorin와 항혈관 효과가 있는 Chondromodulin-1, Encostatin, Thrombospondin-1 등을 함유 하고 있다고 알려져 있다[6-9]. 하지만, 천연고분자인 경우에는 생분해도와 기계적 특성을 조절이 가능하지만 가교제와 같은 화학적 첨가물을 사용하기 때문에 잔존하는 화학물질에 의해 생체안전성이 떨어진다는 한계가 있다.

방사선은 유해한 화학 가교제나 개시제를 사용하지 않고서도 높은 에너지를 이용하여 고분자의 분자 사슬을 이온화 시켜 라디칼이 형성된 분자 사슬간에 가교 결합을 통해 물리화학적 특성을 변화시킬 수 있는 장점이 있다[10-13]. 특히, 소듐 카르복시메틸셀룰로오스는 방사선에 의해 고분자 분자 사슬이 하이드록실 라디칼(hydroxyl radical), 수소 라디칼(Hydrogen radical), 수화 전자(hydrated electrons) 등의 라디칼 형성으로 인해 가교되어 삼차원적 망상구조의 수화젤이 합성 된다는 연구가 발표되었다[14-18]. 또한, 방사선 조사 시 콜라겐은 수용액 상에서는 하이드록 라디칼($\cdot\text{OH}$)으로 인해 화학적인 가교반응이 일어나고 건조된 상태에서는 콜라겐 분자 사슬이 분해가 일어 나는 특징을 가지고 있다[19]. 따라서, 본 연구에서는 화학 가교제 없이 방사선을 이용하여 유착방지 성분을 함유한 돼지 무세포 연골세포외기질(porcine cartilage acellular matrix, PCAM)과 소듐 카르복시메틸셀룰로오스(CMC)의 혼합시 돼지 무세포 연골세포외기질 함량이 증가 함에 따라 수화젤의 젤화율, 젤강도, 팽윤도 등과 같은 물리적 특성과 혈관내피세포의 부착 및 성장율을

낮출 수 있는 유착방지제를 개발하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2-1. 재료

본 연구에서는 소듐 카르복시메틸셀룰로오스(Sodium carboxymethyl cellulose (CMC), DS=1.2, Mw. 250,000)는 Sigma-aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, 돼지 무세포 연골세포외기질(porcine cartilage acellular matrix, PCAM)는 리젠프라이임(주)에서 제공받아 따로 정제과정 없이 사용하였다.

2-2. 제조방법

방사선을 이용한 가교된 수화젤 필름 제조 조건과 방법은 Table 1과 Fig. 1에 나타냈다. 100 ml 유리병에 CMC 분말과 3차 증류수를 넣고 20 wt% 농도로 상온에서 교반기를 이용하여 48시간 동안 용해시켰다. PCAM는 50 ml 유리병에 각각 0.1 wt%와 0.5 wt%로 4 °C에서 교반기를 이용하여 24 시간 동안 용해시켰다. 20 wt% CMC와 0.1 wt% PCAM 혼합 수용액과 20 wt% CMC와 0.5 wt% PCAM 혼합 수용액을 혼합비율(CMC:PCAM=90:10(v/v))로 균일혼합기(Planetarycentrifugal mixer, Awatori Rentaro, ARE-310, THINKY Corporation, Japan)를 이용하여 4 °C에서 교반기를 이용하여 4 시간 동안 교반된 점성이 강한 혼합용액을 각각 페트리 접시(9.5 mm ×9.5 mm)에 부어 격자 형태의 패턴을 갖는 Polyethylene (PE) 필름을 덮고 압착 후에 필름 형태로 성형하였다. 필름 형태로 가공된 CMC와 CMC/PCAM을 방사선을 이용하여 가교된 수화젤 필름을 제조하였다. 방사선 조사는 감마선(^{60}Co , MDS Nordion, Canada)을 사용하였고, 감마선 선량은 25 kGy(선량률: 10 kGy/hr)로 조사하였다. 감마선 조사에 의해 가교된 CMC와 CMC/PCAM 수화젤 필름은 50 °C 건조기에서 4일 동안 건조하였다.

2-3. 형태학적 분석

방사선으로 가교된 CMC와 CMC/PCAM 수화젤 필름의 표면을 관찰하기 위해 주사전자현미경(SEM, Hitachi S-4800, Japan)을 이용하여 확인하였다. 방사선 가교된 필름에서 미반응된 CMC와 PCAM를 제거시키기 위하여 30 °C에서 72시간 동안 침지 시키고

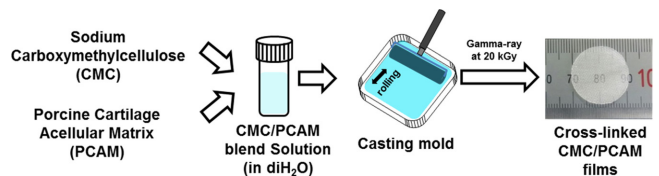


Fig. 1. Schematic diagrams for the preparation of CMC/PCAM hydrogel film using gamma-irradiation.

Table 1. Gamma-irradiation conditions of carboxymethyl cellulose/porcine cartilage acellular matrix hydrogels

Sample code	CMC ^a Concentration (wt%) (Mw=250 kDa) (DS=1.2)	PCAM ^a Concentration (wt%)	Final solution Volume ratio (CMC:PCAM)	Final wt% (CMC:PCAM)	Gamma-irradiation Dose (kGy)
Cp 0	20	-	100:0	20:0	25
Cp 1	20	0.1	90:10	18:0.01	25
Cp 2	20	0.5	90:10	18:0.05	25

^aCMC and PCP were dissolved in diH₂O. Mw, molecular weight; DS, degree of substitution; CMC, sodium carboxymethylcellulose; PCAM, porcine cartilage acellular matrix

3차 증류수로 3번 이상 세척 한 후 50 °C 건조기에서 4일 동안 건조 하였다. 건조된 샘플은 고해상도의 이미지를 얻기 위해서 sputter coater를 이용하여 90초 동안 백금코팅을 하였으며, 20 kV의 전자 빔, 10 mm의 거리의 조건을 사용하여 확인하였다.

2-4. 젤화율

CMC와 CMC/PCAM 수화젤 필름의 젤화율 측정을 위해 방사선 조사 후 수세전에 건조된 필름의 초기무게(W_i)를 재고 30 °C에서 72시간 동안 침지 시키고 3차 증류수로 3번 이상 세척 한 후 오븐에 넣어 70 °C에서 48시간 건조시켜 건조된 필름의 무게(W_d)를 측정 후 식 (1)에 대입하여 젤화율을 백분율로 표시하였다[2].

$$\text{젤화율}(\%) = W_d / W_i \times 100 \quad (1)$$

2-5. 압축강도

CMC와 CMC/PCAM 수화젤 필름의 압축강도를 측정하기 위해 Texture analyser (TX-XT2i, stable microsystem Co. Ltd. Surrey England)를 이용하여 측정하였다. 수화젤의 시편 두께는 평균 2 mm, 초기 지름은 10 mm 이었으며 각 실험군 당 5개의 시편을 제조하여 측정하였다. 압축강도 측정 시 크로스 헤드(cross head) 속도는 10 mm/min으로 시편이 50% 변형이 이루어질 때의 값을 측정하였다.

2-6. 팽윤도

CMC와 CMC/PCAM 수화젤 필름의 팽윤도를 측정하기 위해서 건조된 필름(20 mm×20 mm×2 mm)을 각 실험군 당 5개의 시편을 제조하여 측정하였다. 37 °C에서 증류수에 10 시간 동안 침지시키고 수화젤 필름 표면의 물기를 닦아준 후 무게를 측정하였다. 팽윤도는 팽윤된 필름 무게(W_s)와 건조된 필름 무게(W_d)를 측정 후 식 (2)에 대입하여 팽윤도를 백분율로 나타내었다[2].

$$\text{팽윤도}(\%) = (W_s - W_d) / W_d \times 100 \quad (2)$$

2-7. 세포 부착 및 증식 평가

감마선으로 가교된 수화젤 필름에 세포를 배양하기 위해 6 well plate에 20 wt% CMC (Cp 0), 20 wt%CMC/0.1 wt%PCAM(Cp 1), 20 wt% CMC/0.5 wt% PCAM (Cp 2) 수화젤 필름을 넣은 후 Human Vascular Endothelial Cells (HVECs, Lonza, USA)를 현탁액 1×10^5 의 세포수로 수화젤 필름 표면에 접종한 후 EBM-2 KIT (Lonza, USA)배지에 넣은 후 37 °C, 5% CO₂ incubator에서 7일 동안 배양 하였다. 수화젤 필름에 대한 HVECs의 부착 및 증식도를 확인 하기 위해 Cell counting kit-8 (CCK-8, Dojindo, Japan)을 통해 확인 하였다. 배지와 CCK-8 용액의 비율은 9:1의 비율로 혼합하였으며, 500 ul씩 각각의 6 well plate에 넣고 37 °C에서 2시간 동안 처리 하였다. Spectrometer (PowerWave XS, Biotek, USA)를 이용하여 450 nm에서 측정하였다.

2-8. 통계처리

모든 실험 결과의 통계처리는 각각의 시료에 대한 평균 ± 표준오차로 나타내었으며, two-tailed unpaired Student's *t*-test (Excel, Microsoft)으로 $p < 0.05$ 수준에서 실시하여 평가하였다.

3. 결과 및 토론

3-1. CMC/PCAM 수화젤 필름의 형태학적 특성

Fig. 2(a-c)을 보면 방사선 가교된 CMC와 CMC/PCAM 수화젤 필름의 우수한 유연성은 유착방지제로 사용할 경우 외과적 유착방지 수술 시 다양한 조직 형태에서도 성형 및 고정하기 쉽다는 장점을 가지고 있다. Fig. 2(d-f)에는 방사선 가교된 수화젤 필름에서 반응에 참여하지 못한 CMC 또는 PCAM를 증류수 세척을 통해 제거

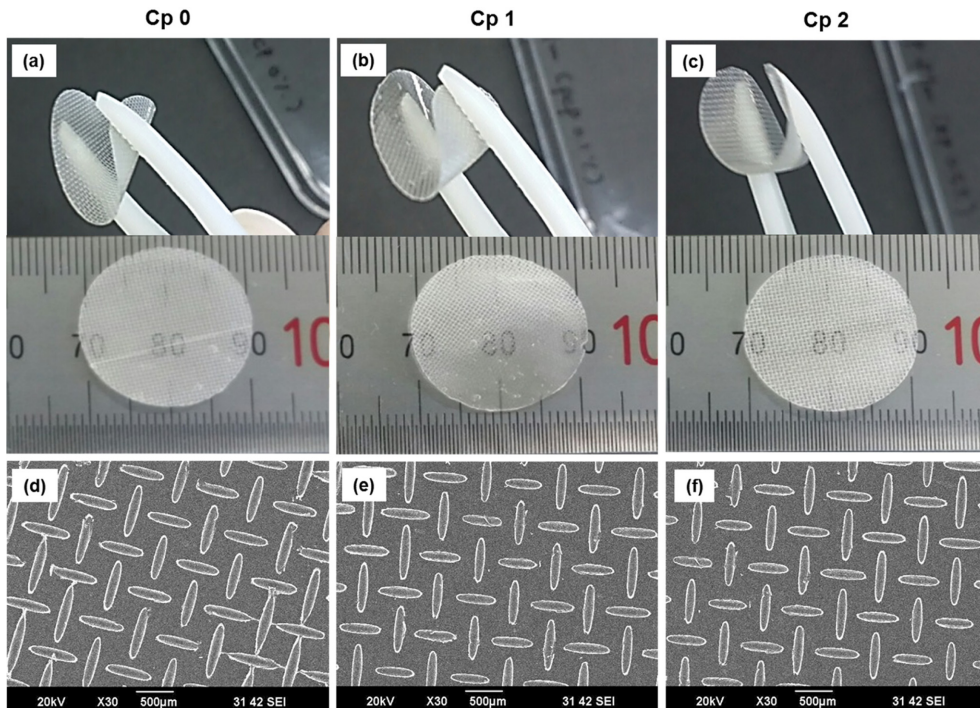


Fig. 2. Scanning electron micrographs of Cp 0 (CMC alone), Cp 1 and Cp 2 hydrogel films after cross-linking using gamma-irradiation. Scale bars represent 500 nm.

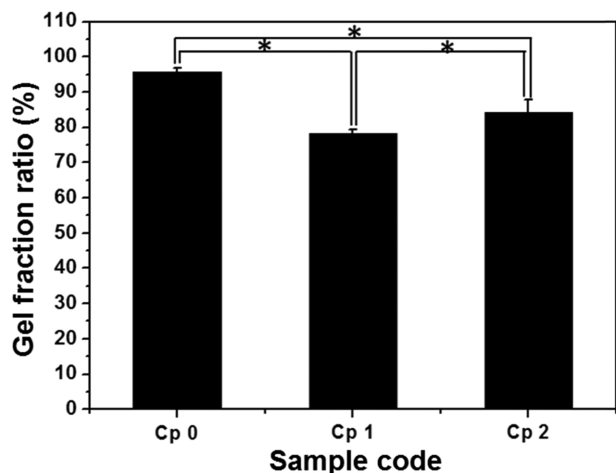


Fig. 3. Gel fraction ratio of Cp 0 (CMC alone), Cp 1 and Cp 2 hydrogel films after cross-linking using gamma-irradiation ($p < 0.05$).

한 후에 건조된 CMC와 CMC/PCAM 필름의 표면을 분석하기 위해서 전자주사현미경을 이용하여 관찰하였다. 방사선 가교 전에 CMC와 CMC/PCAM 필름을 제조 하기 위해서 사용된 이형지 폴리에틸렌 필름에 의해 수화젤 필름 표면에 모양이 인쇄되어 방사선 조사 후 에도 격자형태의 표면을 가진 가교된 필름을 확인 할 수 있었다. 공극이 없는 필름 형태의 표면은 손상된 조직과 조직 사이의 유착을 형성하는 섬유아세포와 신생모세혈관의 침투를 막으면서 조직 유착을 방지 할 수 있을 것으로 사료된다.

3-2. CMC/PCAM 수화젤 필름의 젤화율

방사선에 의해 가교된 CMC와 CMC/PCAM 수화젤 필름의 젤화율을 측정하기 위해서 반응하지 않은 CMC 또는 PCAM를 제거 한 후에 필름의 건조된 필름의 무게를 측정하였다(Fig. 3). 일반적으로 CMC와 콜라겐이 수용액에서는 방사선을 조사하게 되면 CMC와 콜라겐의 분자 사슬은 물 분자에 의해 방사분해(radiolysis)로 생성되는 2차 자유 라디칼인 H 또는 OH 라디칼이 형성되어 CMC의 분자 사슬에 라디칼을 형성하게 되어 물을 함유하는 3차원적인 그물망 구조를 갖는 가교반응이 이루어 진다[17,19]. 하지만, CMC 농도가 10 wt% 보다 낮거나 방사선의 이온화에너지가 낮을 경우에는 CMC의 분자 사슬의 라디칼 밀도가 낮아 화학적인 가교가 형성되기 어렵기 때문에 CMC의 가교 반응이 일어나지 않는 문제점이 있다[18]. 따라서 본 연구에는 유착방지용 수화젤을 제조 하기 위해서 방사선 조사량을 25 kGy 으로 고정하였다. 감마선 25 kGy 선량으로 조사 했을 경우 20 wt% CMC(Cp 0)의 젤화율은 95.2 ± 4.1% 이고, CMC/PCAM 필름에서 PCAM 함량이 증가 할수록 Cp 1과 Cp 2 필름의 젤화율은 77.2 ± 3.2%에서 83.6 ± 2.9%으로 증가 되었다. 방사선에 가교된 CMC/PCAM 필름이 CMC 필름보다 젤화율이 낮은 이유는 CMC/PCAM 수화젤 중에서 방사선에 의해 가교율이 높은 CMC의 함량 감소로 인해 수화젤 내부에서의 약한 3차원 망상 구조가 적게 형성 되었기 때문이라고 사료된다. 그리고, CMC/PCAM 필름에서 PCAM의 중량비가 증가 할수록 젤화율이 높은 이유는 PCAM의 구성 성분인 콜라겐 함량이 증가하게 되어 방사선에 의해 콜라겐의 분자사슬끼리 가교 되었기 때문이라고 사료된다.

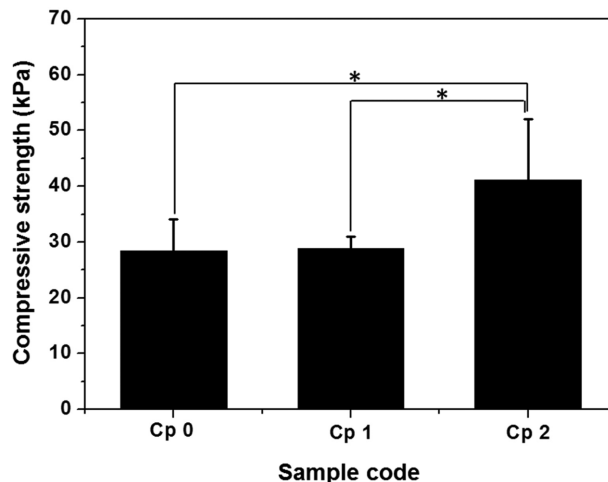


Fig. 4. Compressive strength of Cp 0 (CMC alone), Cp 1 and Cp 2 hydrogel films after cross-linking using gamma-irradiation. ($p < 0.05$).

3-3. CMC/PCAM 수화젤 필름의 압축강도

방사선에 의해 가교된 CMC와 CMC/PCAM 수화젤 필름의 젤강도를 측정하기 위해서 미반응된 CMC 또는 PCAM를 제거된 필름의 압축강도를 측정하였다(Fig. 4). 감마선 25 kGy 선량으로 조사 했을 경우 20 wt% CMC(Cp 0) 필름의 압축강도는 28.5 ± 7.3%이고, CMC/PCAM 필름에서 PCAM 함량이 증가 할수록 Cp 1과 Cp 2 필름의 압축강도는 29.1 ± 4.4%에서 41.2 ± 9.8%으로 증가 되었다. Cp 0과 Cp 1은 압축강도가 유사 한 것으로 보아 CMC/PCAM 필름에서 0.1 wt% PCAM에 포함된 콜라겐의 가교도는 기계적 물성에 영향이 없는 것으로 사료되지만, Cp 2에서 0.5 wt% PCAM의 콜라겐은 CMC의 분자 사슬의 화학적 가교 결합으로 인해 기계적인 물성이 향상 되는 것으로 사료된다. 본 결과로 PCAM의 농도 변화를 통해 장기의 유착을 막을 있는 유착방지제의 물리적 성질을 조절 할 수 있을 것으로 사료된다.

3-4. CMC/PCAM 수화젤 필름의 팽윤도

방사선에 의해 가교된 CMC와 CMC/PCAM 수화젤 필름의 팽윤도를 측정하기 위해서 미반응된 CMC 또는 PCAM를 제거후 건조된 필름을 증류수에서 팽윤 시킨 전후 무게를 10 시간 동안 측정하였다(Fig. 5). 감마선에 의해 가교된 CMC (Cp 0)와 CMC/PCAM (Cp 1, Cp 2) 수화젤의 팽윤도는 시간이 지나 갈수록 CMC 필름이 CMC/PACM 필름보다 팽윤도가 낮았으며, CMC/PACM 필름에서 PCAM 함량 증가 할수록 Cp 2 보다 Cp 1에서 팽윤도가 높았다. Cp 0 필름의 팽윤도는 1,100% 이고, PCAM가 증가 할수록 Cp 1과 Cp 2의 팽윤도는 1,150%에서 1,220%까지 증가 되었다. CMC (Cp 0)필름이 CMC/PCAM (Cp 1, Cp 2) 필름보다 팽윤도가 낮은 이유는 방사선에 의해 가교된 CMC의 분자 사슬의 3차원 망상구조가 CMC/PCAM 보다 높기 때문에 물을 함유 할 수 있는 수화젤 필름 내부에 물을 함유 할 수 있는 부피가 CMC/PCAM보다 적기 때문일 거라 사료된다. 또한, Cp 1보다 Cp 2 필름에서 팽윤도가 낮은 이유는 CMC/PCAM 필름에서 PCAM의 구성 성분인 콜라겐 성분 함량이 증가하여 균일하게 혼합된 CMC의 분자 사슬간 3차원 그물망 구조 증가로 인해 물을 함유 할 수 있는 필름 내부 부피가 감소 했기 때문일 거라 사료된다.

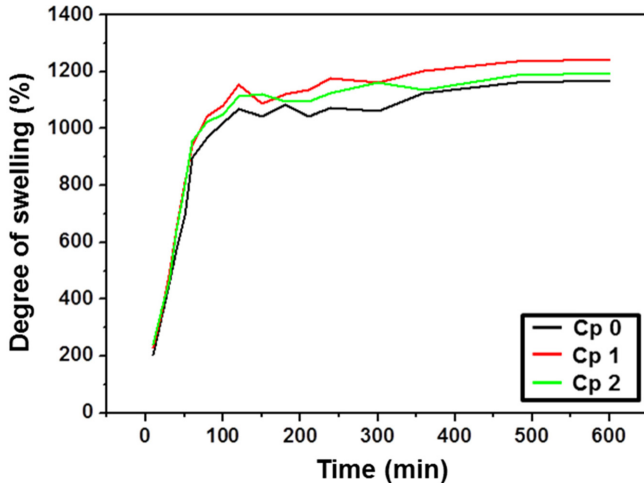


Fig. 5. Degree of swelling of radiation cross-linked Cp 0 (CMC alone), Cp 1 and Cp 2 hydrogel films for 600 mins in deionized water.

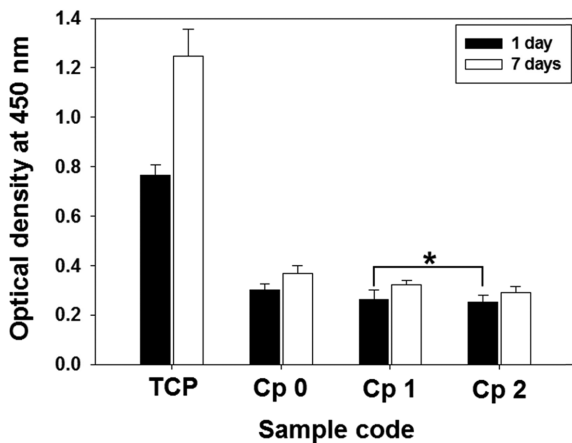


Fig. 6. CCK-8 assay of human vascular endothelial cells on tissue culture plate (TCP), Cp 0 (CMC alone), Cp 1 and Cp 2 hydrogel films for 1 and 7 days ($p < 0.05$, $*p > 0.05$).

3-5. CMC/PCAM 수화젤 필름의 세포 부착도 및 증식도

방사선에 가교된 CMC (Cp 0)와 CMC/PCAM (Cp 1, Cp 2) 수화젤 필름에 HVECs를 접종하고 7일 동안 배양 한 후에 세포의 부착 및 증식도를 측정 하기 위해서 CCK-8 assay를 측정하였다. 대조군은 세포배양접시에 동일한 세포를 접종한 후에 방사선에 가교된 필름과 비교하였다. 대조군인 세포배양 접시에서 모든 CMC(Cp 0)와 CMC/PCAM (Cp 1, Cp 2) 수화젤 필름군보다 세포의 부착 및 증식도가 높았다(Fig. 6). 이는 매우 친수성인 CMC 수화젤은 오히려 소수성인 폴리스티렌 재질의 세포배양접시 보다 약한 세포 부착을 보이기 때문에 사료된다. 또한, 1일차에서 Cp 1와 Cp 2 실험군 사이에는 통계적으로 유효성이 없었지만, CMC (CP100) 수화젤에 비해 PCAM 함량이 증가 되는 CMC/PCAM 수화젤에서 세포의 부착 및 증식이 감소됨을 확인하였다. 세포배양 7일차에서는 CMC (CP100)보다는 PCAM 함량이 증가 할 수록 세포 성장율이 감소하는 것을 확인하였다. 이는 세포의 부착을 방지하는 PCAM의 Lubricin, Biglycan, Decorin 등과 같은 성분들이 25 kGy 방사선 조사량에서도 변형이 없이 유착방지 기능을 할 수 있다는 것을 알 수 있었다. 이는 의료기기의 방사선 멸균선량이 20~25 kGy으로 보았을 경우,

다른 화학 가교제가 필요 없이 방사선 조사만으로 CMC/PCAM 수화젤 필름 제조와 멸균을 동시에 할 수 있다는 것을 알 수 있었다.

4. 결 론

본 연구에서는 항유착성분을 함유한 무세포 돼지연골 세포외기질(PCAM)과 소듐 카르복시메틸셀룰로오스(CMC)을 균일하게 혼합된 용액을 방사선 이온화에너지를 이용하여 수화젤 필름을 제조하였다. 방사선 가교된 CMC/PCAM 필름은 CMC 필름 보다는 젤화율은 낮았지만, 팽윤도와 젤강도는 증가 하는 것을 확인하였다. 또한, CMC/PCAM 수화젤 필름에서는 PCAM 함량이 증가 할수록 혼합된 CMC와의 3차원 망상구조 증가로 인해 젤화율과 젤강도는 증가되는 것을 확인 하였다. 또한, 인간혈관내피세포를 제조된 CMC/PCAM 필름에 세포배양 한 결과 친수성이 높은 CMC 필름 자체만으로도 세포의 정착 및 증식도가 낮은 것을 확인하였으며, 항유착 성분이 함유된 PCAM이 증가 할수록 혈관내피세포의 정착 및 증식율이 감소하는 것을 확인 하였다. 따라서, 항유착성분을 함유한 돼지 무세포 연골세포외기질(PCAM) 조성비가 증가 할수록 CMC/PCAM 수화젤의 유착방지 기능은 향상 될 것으로 사료되며, 향후 실험에서는 장기 유착 동물 실험을 통해 CMC/PCAM 수화젤 필름의 유착방지제로서의 검증을 할 계획이다. 결론적으로 방사선을 이용하여 제조된 항유착 성분을 갖는 CMC/PCAM 수화젤 필름은 유착방지제로서 활용 가능성을 확인하였다.

감 사

본 연구는 보건복지부 의료기기기술개발사업(HI14C0744)과 미래창조과학부에서 주관하는 원자력연구개발사업(2012M2A2A6013196)의 지원에 의해 이루어진 것으로, 이에 감사 드립니다.

References

- Oh A., "Trend of Anti-adhesion Adjuvant-Review," *Biomaterials Research*, **17**(4), 138-145(2013).
- Kim, J., Shin, D. I. and Lee, K. Y., "Prevention of Post-surgical Tissue Adhesions by a Gellan Gum/Chondroitin Sulfate," *Polymer(Korea)*, **40**(3), 397-404(2016).
- Yoo, C. K., Lee, C. H., Kang, C. W., Lee, K. I., Ro, K. Y., Choi, J. Y., Hong, S. C., Chang, C., Lee, Y. W., Lee, Y. M. and Kim, H. K., "GUARDIX-SL[®] in Sinus Surgery: A Preclinical Animal Study," *Korean Journal of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery*, **48**(12), 1457-1461(2005).
- Lee, S. A., Kim, J. S., Kim, J. S., Hwang, J. J., Lee, W. S., Kim, Y. H., Choi, Y. K. and Chee, H. K., "A study of the Effect of a Mixture of Hyaluronic Acid and Sodium Carboxymethyl Cellulose (Guardix-sol[®]) on the Prevention of Pericardial Adhesion," *The Korean Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, **43**, 596-601(2010).
- Lee, J. H., Lim, Y. M., Nho, Y. C., Son T. I., "In vivo Effect of Carboxymethylcellulose(CMC)/Polyethylene Glycol(PEG) Hydrogels Prepared by γ -ray Irradiation for Postsurgical Adhesions," *Applied Chemistry*, **7**(2), 431-434(2003).
- Chung, J. Y., Lee, D. H., Kim, T. H., Kwack, K. S., Yoon, K. H.

- and Min, B. H., "Cartilage Extra-cellular Matrix Biomembrane for the Enhancement of Microfractured Defects," *Knee Surgery Sports Traumatology Arthroscopy*, **22**(6), 1249-1259(2014).
7. Li, T. Z., Jin, C. Z., Choi, B. H., Kim, M. S., Kim, Y. J., Park, S. R., Yoon, J. H. and Min, B. H., "Using Cartilage Extracellular Matrix (CECM) Membrane to Enhance the Reparability of the Bone Marrow Stimulation Technique for Articular Cartilage Defect in Canine Model," *Advanced Functional Materials*, **22**, 4292-4300 (2012).
 8. Shin, Y. S., Lee, B. H., Choi, J. W., Min, B. H., Chang, J. W., Yang, S. S. and Kim, C. H., "Tissue-Engineered Tracheal Reconstruction Using Chondrocyte Seeded on a Porcine Cartilage-derived Substance Scaffold," *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, **78**, 32-38(2014).
 9. Baek, J. H., Kim, K., Yang, S. S., Park, S. H., Song, B. R., Yun, H. W., Jeong, S. I., Kim, Y. J., Min, B. H. and Kim, M. S., "Preparation of Extracellular Matrix Developed Using Porcine Articular Cartilage and In vitro Feasibility Study of Porcine Articular Cartilage as an Anti-Adhesive Film," *Materials*, **9**, 49-58(2016).
 10. Rimdusit, S., Somsaeng, K., Kewsuwan, P., Jubsilp, C. and Tip-tipakorn, S., "Comparison of Gamma Radiation Crosslinking and Chemical Crosslinking on Properties of Methylcellulose Hydrogel," *Engineering Journal*, **16**(4), 15-28(2012).
 11. Kim, S. M., Choi, J. I., Joe, M. H. and Kim, J. D., "Effect of Gamma Irradiation on Wood Chip Saccharification Pretreated with NaOH," *Korean Chem. Eng. Res.*, **54**(3), 431-435(2016).
 12. Nho, Y. C., Lim, Y. M., Gwon, H. J. and Choi, E. K., "Preparation and Characterization of PVA/PVP/glycerin/antibacterial Agent Hydrogels Using γ -irradiation Followed by Freeze-thawing," *Korean J. Chem. Eng.*, **26**(6), 1675-1678(2009).
 13. Choi, J. I., Kim, J. H., Lee, K. W., Song, B. S., Yoon, Y., Byun, M. W. and Lee, J. W., "Comparison of Gamma ray and Electron Beam Irradiation on the Degradation of Carboxymethylcellulose," *Korean J. Chem. Eng.*, **26**(6), 1825-1828(2009).
 14. Lim, Y. M., Lee, J. H., Nho, Y. C. and Son, T. I., "Preparation of Crosslinked Carboxymethylcellulose (CMC) by ^{60}Co γ -ray Irradiation and Its Biodegradable Properties," *Journal of Radiation Industry*, **1**(1), 53-59(2007).
 15. Lee, J. H., Nho, Y. C., Lim, Y. M. and Son, T. I., "Prevention of Surgical Adhesions with Barriers of Carboxymethylcellulose and Poly(ethylene glycol) Hydrogels Synthesized by Irradiation," *Journal of Applied Polymer Science*, **96**(4), 1138-1145(2005).
 16. Liu, P., Zhai, M., Li, J., Peng, J. and Wu, J., "Radiation Preparation and Swelling Behavior of Sodium Carboxymethyl Cellulose Hydrogels," *Radiation Physics and Chemistry*, **63**, 525-528(2002).
 17. Jo, S. Y., Lim, Y. M., Youn, M. H., Gwon, H. J., Park, J. S., Nho, Y. C. and Shin, H., "Fabrication and Characterization of PVA/CMC Hydrogels by Freezing-Thawing Technique and Gamma-Ray Irradiation," *Polymer(Korea)*, **33**(6), 551-554(2009).
 18. Yoshii, F., Zhao, L., Wach, R. A., Nagasawa, N., Mitomo, H. and Kume, T., "Hydrogels of Polysaccharide Derivatives Crosslinked with Irradiation at Paste-like Condition," *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, **208**, 320-324(2003).
 19. Koshimizu, N., Bessho, M., Suzuki, S., Yuguchi, Y., Kitamura, S. and Hara, M., "Gamma-Crosslinked Collagen Gel without Fibrils: Analysis of Structure and Heat Stability," *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, **73**(9), 1915-1921(2009).