

화학관능기가 도입된 고분자표면과 혈액성분과의 상호작용

정 회 원 · 이 진 호* · 강 인 규[†]

경북대학교 고분자공학과, *한남대학교 고분자학과
(1994년 10월 7일 접수)

Interactions of Polymer Surfaces Containing Functional Groups with Blood Components

Hee Won Jung, Jin Ho Lee*, and Inn-Kyu Kang[†]

Dept. of Polymer Science, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

*Dept. of Macromolecular Science, Han Nam University, 133 Ojeong Dong,
Daedeog Ku, Taejeon 300-791, Korea

(Received October 7, 1994)

요 약 : 폴리에틸렌 필름을 코로나방전 처리하여 아크릴산을 그래프트 시키고 그래프트된 아크릴산을 치환반응시켜 수산기 및 아미드기로 각각 전환하였다. 각 관능기가 도입된 폴리에틸렌의 표면분석은 electron spectroscopy for chemical analysis (ESCA), Fourier-transform attenuated total reflectance infrared spectroscopy (FT-ATRIR), 접촉각측정기로 행하였다. 관능기가 도입된 폴리에틸렌과 혈액성분과의 상호작용을 조사한 결과 PE-COOH 표면은 혈장단백질과 혈소판의 활성화를 자극하여 높은 혈전형성을 야기시켰다. 그러나 PE-OH 및 PE-CONH₂는 PE와 비슷한 정도로 혈장단백질과 혈소판을 활성화 시켰다. 한편, PE-OH상에서는 blood mononuclear cells이 점착하더라도 활성화가 억제되었다.

Abstract : Polyethylene films were treated by corona discharge, followed by acrylic acid (-COOH)grafting. The films with different functional groups were prepared by a substitution reaction of carboxylic acid groups to hydroxyl (-CH₂OH) or amide (-CONH₂) groups. Surface characterization of the prepared films was carried out by electron spectroscopy for chemical analysis (ESCA), Fourier-transform attenuated total reflectance infrared spectroscopy (FT-ATRIR) and contact angle goniometer. The interactions of different functional group-grafted polyethylene surfaces with blood components were investigated to evaluate the influence of functional groups on blood compatibility. As a result, PE-COOH surface strongly stimulated the activation of plasma proteins and platelets compared to PE surface, resulting in an increased thrombus formation. However, the activation of plasma proteins and platelets on PE-OH and PE-CONH₂ surfaces was almost the same as that on PE surface. Meanwhile, blood mononuclear cells adhered on PE-OH surfaces were less activated than those on the others.

Keywords : polyethylene, corona discharge, functional groups, blood compatibility.

서 론

생체기관의 기능이 완전히 마비되거나 또는 현재

히 저하되었을 때, 이를 대체하기 위해 고분자재료를 이용하고자 하는 연구가 매우 활발하다. 이들 고분자재료를 이용하여 인공장기를 개발하고자 할

때 가장 큰 문제가 되는 것은 인공장기를 인체내에 이식시켰을 때 혈액 및 조직세포와의 적합성을 가져야 하는 것이다.^{1,2} 특히 인공심장이나 인공혈관과 같이 재료가 혈액과 직접 접촉하는 경우에는 재료표면의 혈액적합성이 절실히 요구된다. 인공재료가 혈액과 접촉하게 되면 혈장단백질이 빠르게 재료표면에 흡착하고, 혈액응고인자들이 활성화하며 계속해서 혈소판의 점착 및 활성화가 진행되고 피브린 망상구조를 형성하여 혈액이 응고한다.^{3,4} 그동안 항혈전성을 갖는 고분자를 얻기 위해 여러가지 가설하에서 연구가 되어 왔다. 예를 들면 최소계면에너지,⁵ 친수성/소수성의 균형,⁶ 음전하,⁷ 친수성질,⁸ 상분리구조⁹ 등을 갖는 표면이 항혈전성을 나타낼 것이라는 가정하에 연구대상이 되어 왔다.

한편, 음전하와 양전하를 모두 갖고 있는 혈장단백질은 재료표면에 흡착되었을 때 표면성질에 따라 α -helix, β -sheet 또는 random coil 구조를 나타낸다.¹⁰ 흡착된 단백질의 형태 (conformation)는 혈소판의 점착 및 활성화에 크게 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.¹¹ 표면에 음전하를 띠는 고분자가 양전하를 띠는 고분자보다 혈액적합성이 유리하다는 보고⁷가 있으나 동일한 표면에서 동일 농도의 음전하와 양전하 또는 수산기를 갖는 재료를 대상으로 혈액적합성을 비교한 예는 아직 없다.

본 연구에서는 화학적 구조가 매우 단순하며 극성그룹을 갖고 있지 않는 폴리에틸렌 (PE)을 기질로 선정하고, 이들 표면의 화학적 구조를 분자수준에서 조절하여 같은 기질표면에 동일한 밀도의 화학관능기를 각각 도입하고 이들 관능기와 혈액성분과의 상호작용을 조사하여 항혈전성 고분자의 재료개발에 필요한 기초적인 정보를 제공하고자 한다.

실 험

시약. 아크릴산은 일본 Junsei사 제품을 50°C에서 감압증류하여 사용하였으며 rhodamine 6Gx 및 triton X-100은 Sigma사 (U.S.A.)의 제품을

그대로 사용하였다. PCl_5 (Fluka Chem., Japan), NH_4OH (Katayama Chem., Japan) 및 LiAlH_4 (Janssen Chimica, France)도 시약급을 그대로 사용하였다. 구연산나트륨 (Shinyo Pure Chem., Japan)과 인산완충용액의 제조에 사용된 disodium hydrogen phosphate (Wako Pure Chem., Japan), potassium dihydrogen phosphate (Kanto Chem., Japan), NaCl, KCl 등도 1급시약을 그대로 사용하였다. 또한 염화칼슘 및 글루탈알데히드 등도 1급시약을 그대로 사용하였다.

코로나방전 처리 및 아크릴산 그래프트. 첨가제를 함유하지 않은 저밀도 폴리에틸렌 필름 (두께, 250~300 μm)은 한양화학으로부터 제공받아 사용하였다. PE필름 (100×130mm)을 Triton X-100 (0.1mL)을 함유하는 증류수 (200mL)에 넣고 초음파기를 이용하여 30분 동안 세척하였다. 그 후 아세톤 (200mL)과 메탄올 (200mL)로 치환하여 30분간 초음파 처리 후 최종적으로 에탄올로 씻어 48시간 진공건조 하였다. 코로나 방전장치를 이용한 PE필름의 표면개질에 대해서는 이미 보고¹²한 바 있으나 간단히 살펴보면 다음과 같다. PE시트를 코로나방전 장치내의 시료대에 올려 놓고 건조된 공기를 20L/min의 속도로 계속해서 장치내로 흘려보낸다. 방전전극과 시료 사이를 1.5mm로 유지하고 시료대를 1.0cm/sec로 일정하게 이동 시킴과 동시에 전극으로부터 코로나방전을 발생시킨다 (방전출력, 100KHz에서 30watt). 코로나방전 처리한 PE필름을 공기중에서 30분간 방치 후 10v/v% 아크릴산 수용액 (60mL)에 넣고 70°C에서 60분간 그래프트 중합시켰다. 반응종료 후 필름을 증류수에 담구어 세척한 후 다시 0.1wt% triton X-100 수용액에 넣어 30분간 초음파 세척하였다. 최종적으로 필름을 증류수에 넣어 초음파 세척하고 약 60°C의 진공오븐에서 24시간 이상 건조하였다. PE 표면에 그래프트된 아크릴산의 확인은 Fourier-transform attenuated total reflectance infrared spectroscopy (FT-ATRIR) 및 electron spectroscopy for chemical analysis

(ESCA)을 이용하여 행하였다.

Rhodamine 6Gx 4mg을 인산완충용액 4mL에 녹이고 이것을 벤젠 100mL로 추출하여 노란색의 benzene-rhodamine 추출액을 얻어 dye reagent로 사용하였다. Dye reagent는 486nm에서 최대 흡광도를 나타내는데 염료의 농도와 흡광도와의 관계로부터 검정곡선을 작성하였다. 아크릴산이 그래프트된 PE를 dye reagent에 넣어 카르복시기와 rhodamine이 착물을 형성할 수 있도록 2시간 방치하였다. 그후 그래프트 PE를 들어내고 일정량의 벤젠으로 세척한 후 세척액과 남아 있는 dye reagent를 혼합하여 흡광도를 측정하고 원래의 dye reagent의 흡광도와의 차이로 부터 그래프트된 아크릴산의 농도를 계산하였다.¹³

화학관능기의 도입. Fig. 1에 나타낸 바와같이 아크릴산이 그래프트된 폴리에틸렌 (PE-COOH)을 10wt% PCl_5 에테르 용액에 넣어 실온에서 1시간 반응을 행하여 PE필름 표면의 카르복시기 (-COOH)를 -COCl로 만든 후 수산화암모늄 포화수용액 중에 접촉시켜 아미드기 (-CONH₂)로 전환하였다. 또한 이것을 0.5% $LiAlH_4$ 에테르용액과 접촉시켜 -CH₂NH₂로 바꾸는 반응도 행하였다. 한편 표면의 -COCl을 환원제인 $LiAlH_4$ 를 이용하여 -CH₂OH로 전환하였다.¹² 각 단계별의 반응확인은 FT-ATRIR (Midak FT-IR, ZnSe crystal) 및

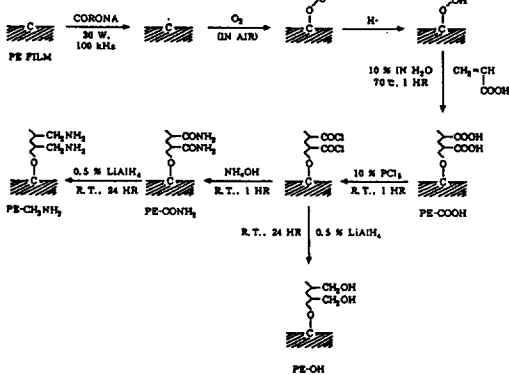


Fig. 1. Schematic diagram of the functional group-grafted PE surfaces by corona discharge treatment followed by graft copolymerization and subsequent substitution reactions.

ESCA (ESCALAB MK II, V.G. Scientific Co., U.K.)로 하였다.

접촉각 측정. 표면개질한 PE의 적심성을 조사하기 위해 각 필름위에 작은 물방울 (약 5 μ L)을 떨어뜨려 표면과 물방울이 이루는 각도를 접촉각기 (Model 100-0, Rame-Hart, Inc., U.S.A.)로 측정하였다. 각 시료마다 위치를 바꾸어 5회 이상 측정한 후 그 평균값을 물접촉각 (water contact angle)으로 사용하였다.

혈전형성. 3 \times 3cm 크기의 PE 및 화학관능기가 도입된 PE 필름을 시계접시위에 부착시켰다. 37 $^{\circ}$ C의 항온조에 시계접시를 넣고 증류수 (3mL)를 시료위에 약 30분간 접촉시켜 필름표면을 팽윤시켰다. 그 후 물을 제거한 후 10%의 구연산을 함유하는 혈액 200 μ L를 필름위에 도입하였다. 그리고 0.1M $CaCl_2$ 수용액 50 μ L를 혈액에 넣어 혼합한 후 일정시간 동안 혈액응고반응을 행하였다. 일정시간이 지난 후 증류수 5mL를 도입하여 혈액응고반응을 중지시키고 스파틀라를 이용하여 혈전을 분리한 후 37% 포름알데히드 수용액에 넣어 고정화하였다. 고정화한 혈전을 꺼내어 무게변화가 없을 때까지 진공건조하여 무게를 측정하고 glass상에서 40분 후에 형성한 무게를 100으로 잡고 상대적인 양을 백분율로 계산하였다.

Plasma recalcification time (PRT). 혈액에 대해 구연산을 10% 혼합하여 원심분리법으로 platelet rich plasma (PRP)을 얻고 얼음물상에서 보관하다가 실험에 사용하였다. 시계접시 (직경 : 4cm, 높이 : 1.5cm)에 개질 PE 필름 (3 \times 3cm)을 부착시키고 증류수 3mL를 도입하여 30분간 표면을 팽윤시켰다. PRT 실험은 이전 보고한 방법¹⁴에 따라 실시하였으며 각 시료별 4회씩 실시하여 그 평균값을 PRT로 사용하였다.

혈소판 정착. 개질 PE 필름을 직경 1.6cm로 등글게 잘라 24 well culture dish에 넣었다. 측정시료가 든 dish를 37 $^{\circ}$ C의 항온조에 넣고 증류수 200 μ L를 넣어 30분간 팽윤시켰다. 그 후 증류수를 제거하고 원심분리법으로 얻은 PRP 100 μ L를 넣

어 일정시간 동안 유지하였다. 인산완충용액을 넣어 가볍게 흔들어 rinsing 한 후 글루탈알데히드 수용액으로 침착혈소관을 고정하여 이전 보고한 방법에 따라 주사형 전자현미경 (SEM, Model S2000, Shimadzu Co., Japan)으로 관찰하였다.¹³

Blood Mononuclear Cells (BMC)의 정착.

신선한 혈액 60mL을 채혈하여 Hanks Balanced Salts (HBS, Irvine Scientific Co., U.S.A.) 용액 60mL와 혼합하였다. 15mL 용량의 원심튜브에 Ficoll-Paque (Sigma, Cat. No. 1383) 3mL을 넣은 후 HBS로 묶힌 혈액 9mL을 넣어 비중법에 의해 적혈구를 분리제거 하였다. 상층액을 1800rpm에서 20분간 원심하고 튜브의 중간층에 떠오른 형성된 BMC와 혈소관의 혼합층을 스포이드로 취하여 50mL 튜브에 옮겼다. 다시 HBS 45mL를 넣어 희석시킨 후 1800rpm에서 10분간 원심하였다. 중간층에 형성된 BMC를 별도로 취하여 RPMI 1640 medium (Sigma, Cat. No. P1390)에 현탁시키고 혈청알부민을 2wt% 넣어 점착실험에 사용하였다.¹⁵ 개질 PE필름을 미리 팽윤시킨 후 BMC 현탁액을 500 μ L 넣어 37 $^{\circ}$ C에서 일정시간 동안 incubation 하였다. 이때 초기 BMC의 농도는 3.37 $\times 10^6$ /mL 이었다. Incubation 후 필름을 꺼내어 HBS로 3회에 걸쳐 점착한 BMC를 분리하였다. 이때 필름을 광학현미경으로 관찰한 결과 BMC가 관찰되지 않았으므로 완전히 분리 되었다고 판단하였다. 분리한 BMC의 농도는 hemocytometer를 이용하여 결정하였다. 한편 점착된 BMC의 형태학적 관찰을 위해 BMC가 점착된 필름을 0.1% 글루탈알데히드 완충용액으로 고정시키고 에탄올/중류수 혼합액 시리즈를 이용하여 탈수하였다. 그후 24시간 상온에서 자연건조 시킨 후 금을 증착 후 SEM으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 폴리에틸렌 필름을 코로나 방전처리하여 아크릴산을 그래프트 시키고 화학반응에 의

해 그래프트된 아크릴산의 카르복시기를 수산기, 아미드기, 아미노기로 각각 전환하였다. 또한 화학관능기가 도입된 폴리에틸렌 표면과 혈액성분들과의 상호작용을 조사하여 화학관능그룹이 혈액성분에 미치는 영향을 고찰하였다.

화학관능기의 도입. Fig. 1에 나타낸 바와 같이 전환반응이 100% 진행되었다고 하면 PE-COOH의 카르복시기 농도는 PE-CH₂OH, PE-CONH₂ 및 PE-CH₂NH₂의 각 화학관능그룹의 농도와 같게 된다. 따라서 PE표면의 -COOH의 농도를 아는 것은 매우 중요하다. 본 연구에서는 코로나 방전처리에 의해 그래프트된 아크릴산의 농도를 염료상호작용법에 의해 결정하였다.¹³ Table 1에는 PE필름을 코로나 방전처리하여 공기중에 30분간 방치하였을 때 생성한 과산화물의 농도 및 이들 과산화물을 개시점으로하여 아크릴산을 그래프트 시켰을 때 그래프트된 아크릴산의 농도를 나타내었다. 그 결과 PE표면에 생성한 과산화물은 7.0nmol/cm² 이었고, 아크릴산은 3.3 μ mol/cm² 이었다. Ikada 등¹⁶은 PE 필름을 아르곤 플라즈마 처리했을 때 생성하는 최대 과산화물의 농도가 0.35nmol/cm² 라고 보고하였다. 본 연구의 PE표면에 생성한 과산화물의 농도는 아르곤 플라즈마에 의해 생성한 과산화물의 농도보다 20배 높은 값이다. 또한 이전 보고¹³한 산소플라즈마에 의해 생성한 폴리우레탄 표면의 과산화물의 농도 (2.4nmol/cm²) 보다도 약 3배 큰 값을 나타내고 있다. PE표면의 과산화물이 열분해에 의해 2개의 라디칼이 생성되고 이들이 아크릴산의 그래프트중합을 개시한다고 가정하면 표면에 그래프트된 아크릴산의 이론적 평균분자량

Table 1. Concentration of Peroxide and Carboxylic Acid Groups Generated on PE Film Surfaces

Concentration of Peroxide ^a (nmol/cm ²)	Concentration of Acrylic acid ^b (μ mol/cm ²)
7.0 \pm 0.6	3.3 \pm 0.4

^a Measured by DPPH method.¹⁶

^b Measured by dye-interaction method.¹⁷

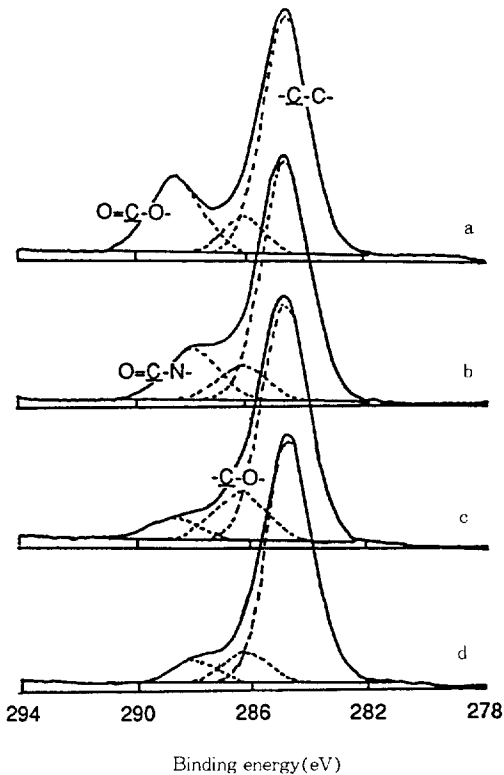


Fig. 2. ESCA carbon 1S core level scan spectra of functional group-grafted PE surfaces: (a) PE-COOH, (b) PE-CONH₂, (c) PE-OH, and (d) PE-CH₂NH₂.

은 약 17,000이 된다. 그러나 실제로는 한개의 라디칼을 발생하는 peroxy group (-OOH)이 있을 수 있고 또한 입체적인 장애가 유발되어 모든 라디칼이 개시점이 될 수는 없으므로 그래프트체인의 평균분자량은 계산값 보다도 다소 컸을 것으로 생각된다.

PE표면에 그래프트된 아크릴산은 FT-ATRIR 스펙트럼의 1700cm⁻¹ 부근의 흡수피크로 부터 확인하였으며 카르복시기를 전환하여 얻은 화학관능기를 갖는 PE표면의 분석은 ESCA의 carbon 1S core level spectra로 행하였다.¹⁷ 개질PE표면의 ESCA carbon 1S 스펙트럼을 Fig. 2에 나타내었다. PE-COOH (a)의 카르복시기에 기인하는 289eV의 피크강도가 PE-CH₂OH (c)에서는 대폭

작아지고 그대신 수산기에 기인하는 286.6eV의 피크강도가 크게 증가하였다. 이것은 -COOH의 많은 부분이 -OH로 전환되었음을 시사한다. 본 연구에서는 부분적으로 -COOH가 남아있고 대부분이 -OH로 전환된 표면을 편의상 PE-CH₂OH로 표기하였다. Fig. 2의 (b)에서 나타내는 바와같이 289eV의 피크가 사라지고 288eV에서 새로운 피크가 크게 나타났는데 이것은 O=C-N-에 기인하는 것이다. 그러므로 카르복시기의 거의 대부분이 아미드기로 전환되었음을 알 수 있다. 한편 스펙트럼 (d)에서는 O=C-N-에 기인하는 288eV의 강도가 스펙트럼 (b)에 비해 감소하고 C-C에 기인하는 285eV의 강도가 증가하여 -CONH₂의 일부가 -CH₂NH₂로 전환되었음을 알 수 있었다. (d)의 경우 부분적으로 -CONH₂가 남아있고 나머지가 -CH₂NH₂로 전환되었으나 PE-CH₂NH₂로 표기하였다.

PE의 물접촉각을 측정한 결과 95.5°를 나타내어 소수성 표면임을 알 수 있다 (Table 2). 그러나 코로나 방전처리에 의해 화학관능기를 도입한 PE표면은 22.8~34.8°의 접촉각을 나타내어 친수성표면으로 바뀌었음을 알 수 있었다.

화학관능기와 혈액성분과의 상호작용. 앞서 고찰한 바와 같이 동일한 PE표면에 -COOH 및 -CONH₂를 거의 같은 밀도로 도입할 수 있었으며 -COOH의 대부분을 -CH₂OH로 치환시킨 표면도 얻을 수 있었다. 그러나 -CONH₂의 -CH₂NH₂로의 치환율은 비교적 낮게 나타났다. 따라서 각 관능기와 혈액성분과의 상호작용을 조사하기 위해

Table 2. Water Contact Angles of PE Surfaces with Different Functional Groups

Substrate	Contact angle ^a (°)
PE	95.5 ± 2.5
PE-COOH	22.8 ± 1.7
PE-OH	34.8 ± 2.1
PE-CONH ₂	23.2 ± 2.1
PE-CH ₂ NH ₂	28.4 ± 2.7

^a Measured by a sessile droplet method.

PE-CH₂NH₂를 제외한 PE-COOH, PE-CONH₂ 및 PE-CH₂OH를 기질로 선정하여 혈액성분과의 상호작용을 조사 하였다. Fig. 3은 화학관능기를 갖는 PE표면에 혈액을 접촉시켰을 때 생성한 혈전의 양을 나타낸 결과이다. 혈액접촉시간이 길어짐에 따라 응고율이 증가하는 현상은 모든 기질표면에서 동일하게 나타나고 있다. PE를 기준으로 오차범위 10%를 감안하여 비교할 때 PE-OH 및 PE-CONH₂에서의 혈전생성량은 PE와 거의 비슷한 정도를 나타내고 있다. 반면에 PE-COOH는 약 20분 후부터 PE보다 약간 많은 혈액응고율을 나타내었다. 혈전형성을 야기시키는 응고계는 혈액응고인자, 혈소판 등 복잡한 경로가 관여되고 있으므로 혈장단백질계와 혈소판계로 나누어 살펴볼 필요가 있다. 혈액중에서 백혈구, 적혈구 및 혈소판 등을 제거하고 나면 혈장단백질이 얻어지며 이 단백질용액은 혈액응고 인자들을 함유하고 있다. 각종 화학관능기를 갖는 PE표면에 혈장단백질을 접촉시키고 fibrin network이 형성될 때까지의 시간을 측정하여 Fig. 4에 나타내었다. 관능기를 갖는 표면에서의 단백질 응고시간은 약 505~661초의 범위를 나타내었고 PE에서는 584초를 나타내었다. 화학관능기를 갖지 않는 PE와 비교하여 볼 때 아미드가 그래프트된 경우 PRT가 다소 길게 나타났으며 카르복시기가 그래프트된 경우는 오히려 짧게 나타났다. 표면에 음이온을 띠는 재료는 혈액적합성에 유리하다는 보고⁷가 있으나 본 연구에서는 이와 상반되는 결과를 나타냈다. 따라서 음이온의 종류 (술폰산기, 카르복시기) 및 이들이 결합되어 있는 주체의 유연성 등을 고려한 혈액적합성 평가가 검토되어야 할 것으로 생각된다. 한편 PE표면에 수산기가 있는 경우는 PE와 큰 차이를 나타내지 않았다. 그러나 표면에 수산기를 갖고 있는 glass와 비교해 보면 큰 차이를 나타내고 있다. 즉 glass의 경우 328초로 혈장단백질의 응고를 매우 빨리 촉진시킴을 알 수 있다. Glass와 PE-OH에는 모두 수산기가 존재하나 glass의 수산기는 그 탄성이 커서 혈장단백질의 활성화를 촉진시킨 것으

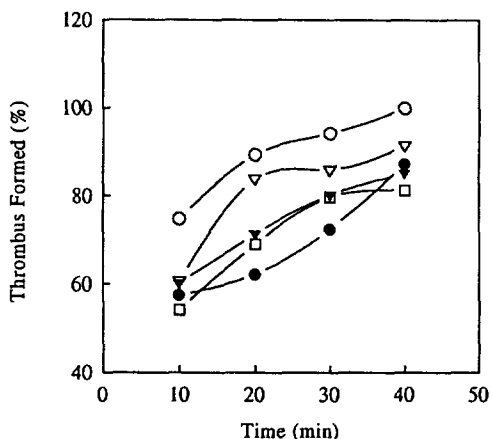


Fig. 3. Thrombus formation on functional group-grafted PE surfaces as a function of incubation time: (○) Glass, (▽) PE-COOH, (●) PE, (▼) PE-OH, and (□) PE-CONH₂.

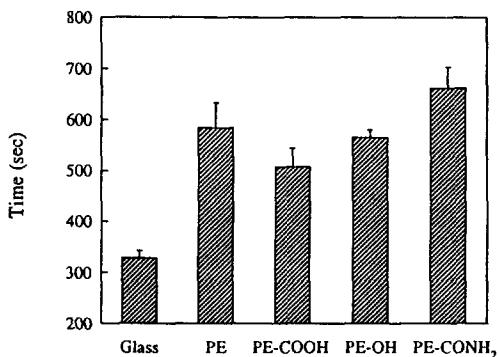


Fig. 4. Plasma recalcification time of functional group-grafted PE surfaces.

로 생각된다.¹⁸

Fig. 5에는 PE표면에 혈소판을 10~120분 간 접촉시키고 점착된 혈소판의 주사형 전자현미경 사진을 나타낸 것이다. 점착혈소판의 수는 접촉시간이 길어짐에 따라 증가하고 120분 후에는 표면 전체에 걸쳐 혈소판이 많이 점착하였다. 화학관능 그룹을 갖는 표면에서의 혈소판 점착거동을 비교하기 위해 PRP와 시료의 접촉시간을 120min으로 하여 SEM관찰을 행하고 그 결과를 Fig. 6에 나타내었다. PE-COOH에서는 혈소판끼리의 응집이 두드러지게 나타났다. PE-CONH₂에서는 혈소판점착수가 비교적 적었고 PE-OH에서는 중간정도의 점착을

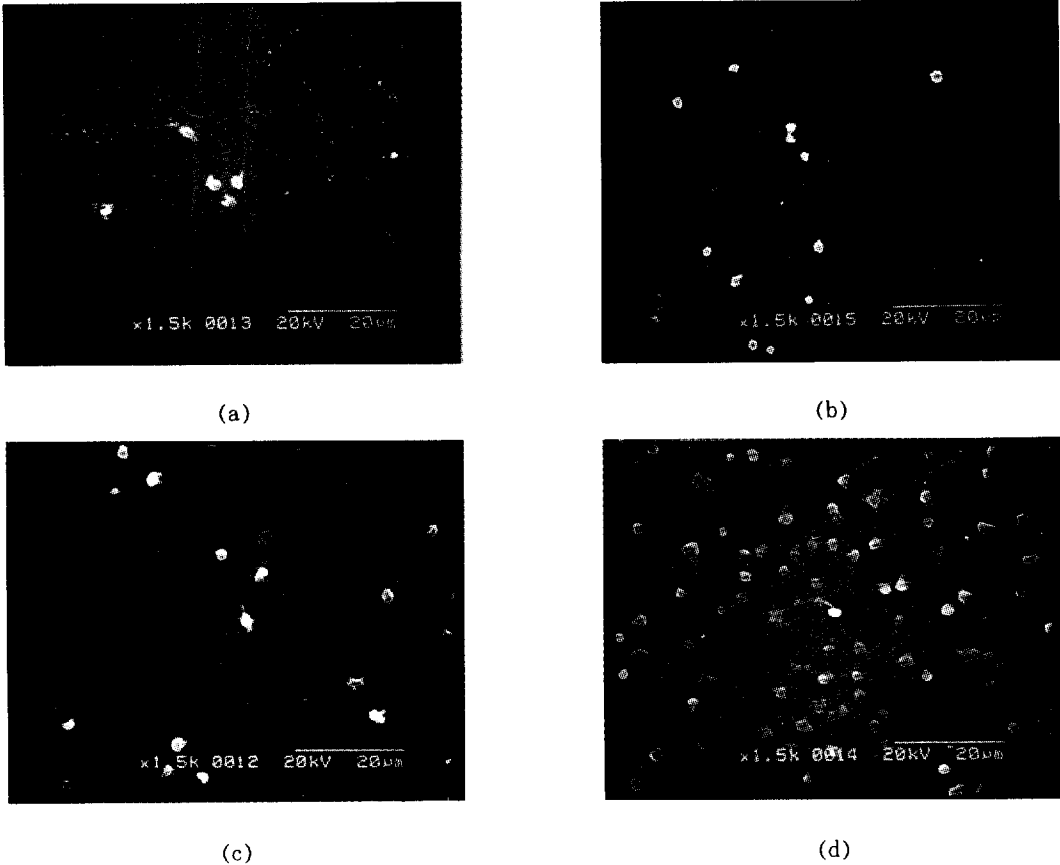
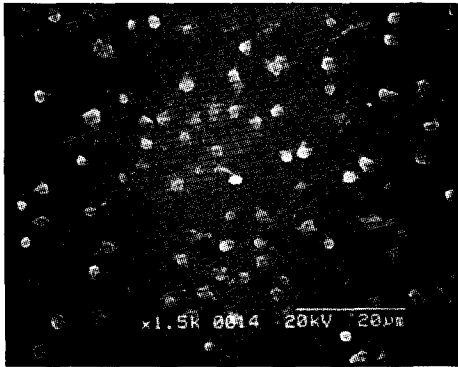


Fig. 5. SEM photographs of platelets adhered on PE surfaces after (a) 10min, (b) 30min, (c) 60min, and (d) 120min incubation.

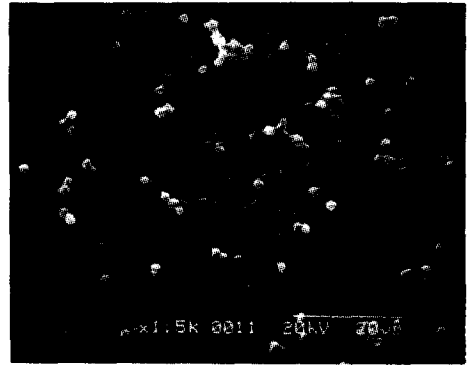
나타내었다. 혈소판 점착실험 이전에 화학관능기를 도입한 PE표면의 bulk형태를 SEM으로 관찰하였으나 비교적 균일한 표면이었다. 그러나 PE-OH의 경우 표면에 흰띠가 나타나고 있는데 이것은 표면의 팽윤 및 수축에 기인하는 것으로 추측될 뿐 현재로서는 그 이유가 명확하지 않다.

단구 (monocytes)나 임파구 (lymphocytes)와 같은 blood mononuclear cells은 중요한 면역세포로서 혈관내에 존재하면서 혈액응고계에도 관여하고 있는 것으로 알려져 있다.¹⁹ 화학관능기를 갖는 표면에 BMC를 접촉시키고 접촉시간과 점착율의 관계를 조사하여 Fig. 7에 나타내었다. 기질의 종류에 관계없이 초기 약 2시간 까지는 점착율이

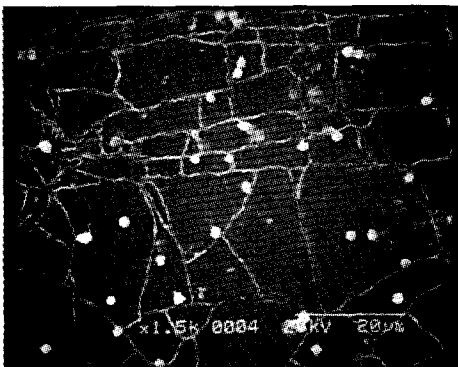
증가하였다. PE-OH는 2시간 이후에도 비슷한 속도로 점착율이 증가하였으나 PE-COOH, PE-CONH₂ 및 PE에서는 더이상의 증가가 나타나지 않았다. Horbett 등²⁰은 hydroxyethyl methacrylateethylmethacrylate copolymers를 기질로 한 mouse ST3 cells의 점착실험을 행하고 공중합의 조성 및 수산기가 세포접착에 중요한 역할을 한다고 보고하였다. Fig. 7의 PE-OH에서 접촉시간의 증가와 함께 BMC의 점착율이 계속 증가한 것은 PE표면의 수산기(-OH)와 BMC의 특이한 상호작용에 기인한 것으로 생각된다. 한편 Fig. 8에는 개질 PE표면에 BMC를 5시간 접촉시켰을 때의 점착된 세포의 SEM사진을 나타내었다. 점착세포 중에



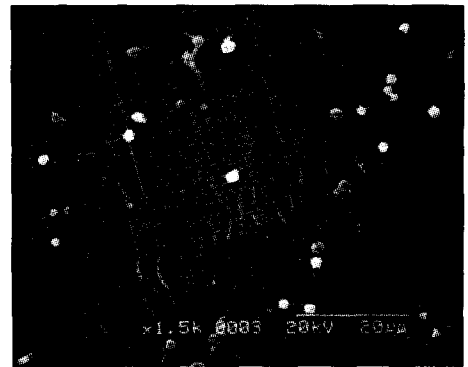
(a)



(b)



(c)



(d)

Fig. 6. SEM photographs of platelets adhered on functional group-grafted PE surfaces after 120min incubation: (a) PE, (b) PE-COOH, (c) PE-OH, and (d) PE-CONH₂.

는 약간의 혈소판이 혼입되어 있으나 BMC의 형태를 관찰하는데는 큰 지장이 없다고 판단되었다. BMC중의 단구는 혈관에서 조직으로 빠져나와 분화하여 식세포 (macrophage)가 되며 이 식세포는 이물질을 섭취하는 기능을 갖고 있다. 단구는 직경 15 μ m 전후의 원형 또는 불규칙한 형태로 존재하며 임파구는 직경 7 μ m 전후의 원형으로 존재한다. Fig. 8의 PE 및 PE-CONH₂에서는 점착된 단구의 형태가 크게 변화하고 있으며 PE-COOH에서는 그 중간 정도의 변화를 나타내고 있고 PE-OH에서는 거의 변화를 일으키지 않고 있다. 본 연구자들은 이전에 화학관능 그룹을 갖는 PE표면에서의 mouse CHO cells의 성장거동을 살펴본 바

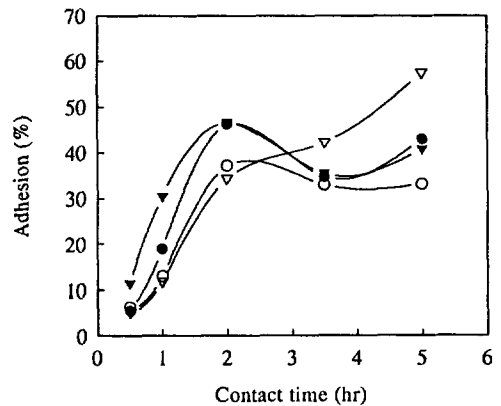


Fig. 7. Adhesion of blood mononuclear cells on functional group-grafted PE surfaces as a function of contact time: (○) PE, (●) PE-COOH, (△) PE-OH, and (▼) PE-CONH₂.

있다.¹² 그 결과 PE-COOH 및 PE-CONH₂에서는 CHO세포를 4일간 배양했을 때 전혀 cell spreading이 일어나지 않았으나 PE-CH₂OH에서는 cell spreading이 충분히 일어났으며 수산기 (-OH)가 조직세포에 대한 친화성을 높이는데 중요하다는 것을 보고하였다.¹² 따라서 Fig. 8의 PE-OH에 점착한 BMC가 형태변화를 적게 일으킨 것은 표면의 수산기의 영향이 큰 것으로 생각된다.

결론

폴리에틸렌 필름표면을 코로나방전 처리하여 아크릴산을 그래프트 시킨 후 치환반응으로 각종 화

학관능기 (PE-COOH, PE-OH, PE-CONH₂)를 도입하였다. 표면에 도입된 관능기가 혈액성분에 미치는 영향을 *in vitro* 실험을 통해 살펴보았다. 혈장단백질의 활성화는 PE-COOH에서 촉진되었고 PE-CONH₂에서는 억제되었다. 그러나 PE-OH에서는 PE와 함께 중간정도의 활성화를 나타내었다. 한편 혈소판의 활성화는 PE-COOH에서 심하게 발생하였고 PE-CONH₂ 및 PE-OH에서는 비교적 적게 나타났다. Mononuclear cells은 PE-OH상에서 점착이 용이하게 일어났으나 활성화는 거의 진행되지 않았다. 그러나 PE-COOH 및 PE-CONH₂에서는 활성화가 촉진되었다.

결국 PE-COOH는 혈장단백질계와 혈소판계의 활

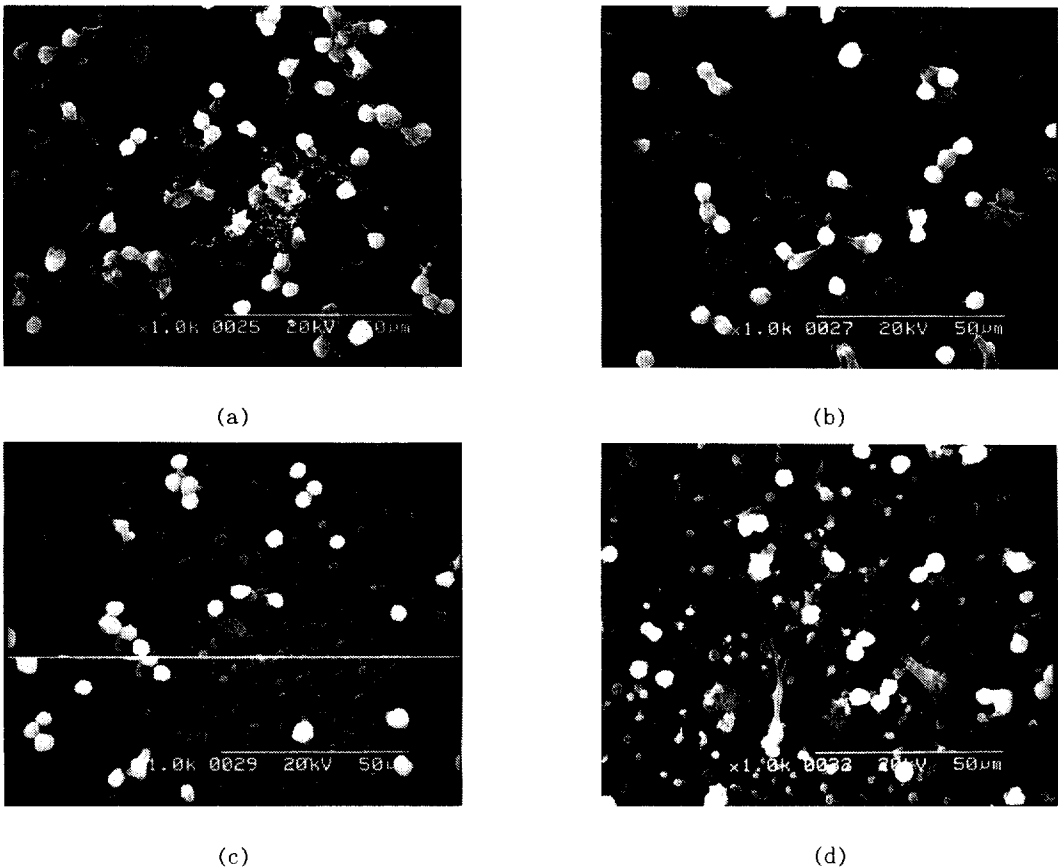


Fig. 8. SEM photographs of blood mononuclear cells adhered on functional group-grafted PE surfaces after 5hr incubation: (a) PE, (b) PE-COOH, (c) PE-OH, and (d) PE-CONH₂.

성화를 촉진시켜 상대적으로 PE-OH 및 PE-CONH₂ 보다 높은 혈전형성을 야기시켰다. 면역세포인 blood mononuclear cells은 PE-OH상에 정착 후 활성화가 억제되어 수산기가 면역세포와의 상호작용에서 활성화억제 작용을 하는 것으로 생각된다.

감사의 글 : 본 논문은 한국과학재단 1994년도 핵심전문연구비 지원 (과제번호:941-1100-024-2)에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. A. S. Hoffman, in "Biomaterials: Interfacial Phenomena and Applications", eds. by S. L. Cooper and N. A. Peppas, p. 3, ACS 199, ACS Press, Washington, D. C., 1982.
2. S. W. Kim and J. Feijen, in "CRC Critical Reviews in Biocompatibility", Vol. 1, p. 215 CRC Press, Boca Raton, 1985.
3. J. L. Brash and S. Uniyal, *J. Polym. Sci., Polym. Symp.*, **66**, 377 (1979).
4. Y. Ikada, in "Polymers in Medicine", ed. by K. Dusek, APS series 57, p. 103, Springer-Verlag, 1984.
5. S. K. Chang, O. S. Hum, M. A. Moscarello, A. W. Neumann, W. Zingg, M. J. Leutheusser, and B. Reugsegger, *Med. Progr. Technol.*, **5**, 57 (1977).
6. E. Nyilas, W. A. Morton, D. M. Lederman, T.-H. Chiu, and R. D. Cumming, *Trans. Am. Soc. Artif. Int. Organs*, **21**, 55 (1975).
7. P. N. Sawyer and J. W. Pate, *Am. J. Physiol.*, **175**, 113 (1953).
8. S. D. Bruck, *J. Biomed. Mater. Res.*, **6**, 173 (1972).
9. T. Okano, S. Nishiyama, I. Shinohara, T. Akaike, and Y. Sakurai, *Polym. J.*, **10**, 223 (1978).
10. A. Baszkin and D. J. Lyman, *J. Biomed. Mater. Res.*, **14**, 393 (1980).
11. D. J. Coleman, E. D. Gregonis, and J. D. Andrade, *J. Biomed. Mater. Res.*, **16**, 381 (1982).
12. J. H. Lee, H. W. Jung, I-K. Kang, and H. B. Lee, *Biomaterials*, **15**, 705 (1994).
13. K. H. Byun, I-K. Kang, H. S. Lim, J. H. Lee, and H. B. Lee, *Polymer (Korea)*, **17**, 186 (1993).
14. S. D. Park, I-K. Kang, K. H. Kim, Y. M. Lee, and Y. K. Sung, *Polymer (Korea)*, **18**, 868 (1994).
15. E. S. Suh, Ph. D. Dissertation, Kyungpook National University, June (1993).
16. M. Suzuki, A. Kishida, H. Iwata, and Y. Ikada, *Macromolecules*, **19**, 1804 (1986).
17. I-K. Kang, B. K. Kwon, J. H. Lee, and H. B. Lee, *Biomaterials*, **14**, 787 (1993).
18. A. S. Hoffman, *J. Biomed. Mater. Res.*, **20**, ix-xi (1986).
19. R. G. Mason, *Progr. Hemostatis Thromb.*, **1**, 141 (1972).
20. T. A. Horbett, M. B. Schway, and B. D. Ratner, *J. Colloid Interface Sci.*, **104**, 28 (1985).