

전기방사를 이용한 *N*-Carboxyethyl Chitosan/Poly(ethylene oxide) 조성의 나노섬유 제조와 유착방지제로의 활용

김진[#] · 조은비[#] · 이창문* · 이기영**[†]

전남대학교 신화학소재공학과, *전남대학교 의공학과, **전남대학교 응용화학공학부&기능성 식품 연구 센터
(2015년 11월 9일 접수, 2015년 12월 12일 수정, 2015년 12월 21일 채택)

Preparation of *N*-Carboxyethyl Chitosan/Poly(ethylene oxide) Nanofiber Using Electrospinning and Its Application as Anti-adhesive

Jin Kim[#], Eun Bi Cho[#], Chang Moon Lee*, and Ki-Young Lee**[†]

Department of Advanced Chemicals and Engineering, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea

*Department of Biomedical Engineering, Chonnam National University, Yeosu 59626, Korea

**Faculty of Applied Chemical Engineering and Functional Food Research Center, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea

(Received November 9, 2015; Revised December 12, 2015; Accepted December 21, 2015)

초록: *N*-carboxyethyl chitosan(CECH)과 poly(ethylene oxide)(PEO)를 전기 방사용 용액으로 제조하고, 전기방사하여 얻은 나노섬유 지지체를 유착방지제로 응용하였다. Chitosan(CH)이 CECH로 합성된 것을 FTIR을 통해 관찰하였다. FE-SEM으로 CECH와 PEO의 농도별 나노섬유의 굵기를 측정하였고, 세포독성 평가와 동물실험을 진행하였다. CECH:PEO의 조성이 3:3일 때 전기방사하여 얻은 섬유가 가장 균일하고 고른 나노섬유 지지체를 형성하는 것을 SEM으로 확인하였다. CECH와 PEO, 그리고 전기방사하여 얻은 나노섬유 지지체는 모든 농도에서 90% 이상의 세포 생존율을 보였다. 유착수술 7일 후 CECH/PEO 나노섬유 지지체는 복강 내 유착 방지에 효과적임을 육안적 방법과 조직학적 방법을 통해 관찰하였다. *In vivo* 실험과 조직학적 시험을 통해 CECH와 PEO로 전기 방사하여 얻은 나노섬유 지지체의 유착방지제로의 활용 가능성을 확인하였다.

Abstract: The nanofiber sheets consisted of *N*-carboxyethyl chitosan (CECH) and poly(ethylene oxide) (PEO) were developed using an electrospinning process to prevent abdominal adhesions after surgical operations. Successful synthesis of CECH from chitosan was confirmed by FTIR. The morphology and biocompatibility of the nanofiber sheets were characterized using a scanning electron microscope and MTT assay. For *in vivo* assessments, CECH/PEO nanofiber sheets were implanted into the abdominal surgical site and the abdominal tissues were evaluated by histological examination. When the weight ratio of CECH to PEO was 3:3, the nanofiber showed the most similar thickness between them. The MTT assay showed that the nanofibers had no significant toxicity toward NIH/3T3 cells at the high elution concentrations. The macroscopic and histological observation after 7 days of surgical process demonstrated that the CECH/PEO nanofiber sheets prevented abdominal adhesion effectively. In conclusion, the CECH/PEO nanofiber sheets can be exploited to prevent postsurgical adhesions.

Keywords: *N*-carboxyethyl chitosan, poly(ethylene oxide), nanofiber, electrospinning.

서 론

유착방지막은 수술 과정 중 혹은 수술 이후에 유착이 예상되는 부분을 물리적 장벽으로 막아 상처부위를 감싸거나 덮

어줌으로써 상처부위와 주변조직과의 접촉에 차단 역할을 한다. 유착방지막으로서 적합한 재료는 생체 내에서 안전하고 염증반응이나 면역반응을 일으키지 않아야 하며 봉합이 필요 없고 혈액 내에서도 활성이 유지되어야 한다.¹ 그리고 손상조직의 치유 기간 동안 남아 있으면서 유착을 방지하는 작용을 하다가 일정기간이 지난 후 분해 또는 흡수되어 별도의 제거가 필요 없이 분해 및 대사를 통해 물질이 배출되고 인체에 무독성이어야 한다. 시중에 판매되고 있는 필름 및 멤브레인

[#]Equally contributed in this study.

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: kilee@chonnam.ac.kr

©2016 The Polymer Society of Korea. All rights reserved.

형태의 유착방지막으로 Seprafilm, Interceed, Surgiwrap과 같은 제품들이 있다. 하지만, 건조상태의 제품은 수분 접촉 시 형태가 변하여 시술에 어려움 문제점을 가지고 있으며,^{2,3} 산화 재생 셀룰로오스(oxidized regenerated cellulose, ORC)로 제조된 Interceed의 경우 빠른 생분해로 생체 적합성이 낮은 단점을 가지고 있다.⁴

또한 Surgiwrap의 경우 polylactide(PLA)의 소재로 소수성이 강해 상처에 접착이 용이하지 않아 상처부위에 봉합을 통하여 고정해야 하는 단점을 가지고 있다. 따라서 본 연구에서는 기존에 개발된 필름과 스폰지 형태 유착방지제에서 벗어나 가볍고 유연성이 좋으며 표면적이 큰 구조체로 다양한 분야에 적용이 가능한 전기 방사법을 통해 나노섬유 구조의 유착방지제를 제조하고자 한다.⁵

키토산은 우수한 생체적합성과 생분해성을 보이고 면역반응을 일으키지 않아 의료용 소재로 널리 응용되고 있다. 하지만, 산성의 환경에서만 용해되는 문제점을 보완하기 위해 수용성 키토산(*N*-carboxyethyl chitosan, CECH)으로 전환시키고 결정성이 높고 수용성인 poly(ethylene oxide)(PEO)를 혼합하여 전기방사 시의 물성을 향상시켰다.

본 연구에서는 카복시에틸 키토산(CECH)과 PEO의 최적비를 조사하고, 이를 활용하여 나노 섬유막을 제조하여 인위적으로 유착을 일으킨 SD rat에 적용시켜 유착방지막으로 활용 가능성을 확인하고자 한다.

실 험

시약 및 재료. 키토산(CH, M_w 190000~310000, 20000 cps)과 폴리에틸렌 옥사이드(PEO, M_w 600000)는 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA) 제품을 구입하여 사용하였다. 또한 실험에 사용된 용매는 Duksan reagent(Ansan, Korea)로부터 구입하여 사용하였다. 그 외의 실험에 사용되는 모든 시약과 용매는 추가적인 정제공정없이 사용하였다. 전기방사장치는 전기공급장치(HM300-60K-SR-MR, ZEFA)와 실린지 펌프(KDS101, KD Scientific), 스테인리스 드립 콜렉터로 구성되어 있다.

***N*-Carboxyethyl Chitosan(CECH)의 제조.** 수용성 키토산을 제조하기 위해 Hu 등의 연구 방법을 변형하여 실험하였다.⁶ 1.68 mL의 아크릴산이 첨가된 50 mL의 증류수에 2 g의 CH를 첨가하였다. 50 °C를 유지하면서 3일 동안 교반한 후 카복실산을 나트륨염으로 치환하기 위해 1 N NaOH 수용액을 첨가하여 pH 10~12로 조정하였다. 혼합된 용액을 투석막(dialysis membrane)을 이용하여 48시간 동안 투석 정제한 뒤 동결 건조하여 얻은 분말을 실험에 사용하였다.

수용화 키토산의 분석. 수용성 키토산의 구조 분석은 핵자기 공명장치(NMR Spectrometer 500 Mhz, Varian, Unity INOVA 500)와 적외선 분광기(FTIR, Shimadzu, 8201PC)로

분석하였다. ¹H NMR은 NMR 용매 D₂O와 CD₃COOD에 5 mg/mL의 농도로 녹여 측정하였다. FTIR은 KBr pellet을 만들어 시편을 제조하였으며, 시료와 KBr을 무게비 1:100로 혼합하여 pellet을 제조하고 60 °C에서 12시간 동안 감압 건조하여 수분을 제거한 후 4000~500 cm⁻¹ 영역에서 측정하였다.

전기방사 용액 및 CECH/PEO 나노섬유 제조. 제조된 CECH와 PEO의 조성비를 1:5, 2:4, 3:3, 4:2, 5:1(w/w)로 구성하여 최종 용액의 농도가 6%(w/v)가 되도록 수용액을 준비하였다. 각 농도별 조성의 고분자의 점도를 측정하기 위해 rheometer(COMPAC-100II, Sun scientific Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 상온에서 점도를 측정하였다. 또한 농도별로 조성된 고분자 용액을 용해한 후, 초음파 처리를 3회 실시하여 충분히 분산시킨 다음, 실린지에 일정량을 충전하여 전기방사하였다. 25 kV 전압에서 5시간 동안 0.02~0.1 mL/min의 방출 속도로 방사되었으며, 제조된 나노섬유 지지체의 수분을 제거하기 위해 동결건조기로 48시간 동안 건조시켜 실험에 사용하였다.

나노섬유 특성 분석. 형태학적 구조 분석은 건조된 나노섬유 지지체를 백금 코팅한 후 주사전자현미경(FE-SEM, JEOL, JSM-5400A)을 이용하여 표면과 나노섬유의 직경을 조사하였다. 나노섬유 지지체의 열분석을 위해 시차주사열량측정법(DSC, Mettler Toledo, DSC-821)을 사용하여 질소 조건하에서 유리전이온도를 측정하였다. 분당 50 mL의 질소흐름의 조건 하에 400 °C까지 측정하였다.

세포독성평가. 나노섬유 지지체의 세포 독성을 평가하기 위해서 MTT assay를 실시하였다. 한국 세포주 은행(KCLB: Korean cell line bank)으로부터 섬유아세포(NIH/3T3, Fibroblast)를 구입하여 사용하였다. NIH/3T3 세포는 10% fetal bovine serum(FBS; GIBCO)과 1% 항생제(GIBCO)를 함유한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM; GIBCO) 배지에서 37 °C, 5% CO₂ 조건 하에 배양하였으며 2~3일 간격으로 계대배양하여 실험에 사용하였다. NIH/3T3 세포를 96 well tissue culture plate에 1×10⁵ cells/mL로 각 well 당 100 μL씩 분주하여, 24시간 동안 배양 후 실험에 사용하였다. L-929 세포에 나노섬유 지지체 용출물을 함께 처리하여 37 °C, 5% CO₂ 조건하에서 배양하였다. 24시간 후 용출물이 포함되어 있는 배지에 3-[4,5-dimethyl-1-thiazolo-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide] (MTT assay reagent) 용액을 처리하여 37 °C에서 4시간 동안 반응시킨 후, 배지를 제거하고 dimethylsulfoxide를 첨가한 후, 570 nm에서 ELISA Reader(BioTek, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

동물실험. 유착방지 실험에 사용한 동물모델로는 (주)오리엔트바이오(Korea)에서 구입한 4주령 수컷 Sprague-Dawley Rat을 사용하였다. 실험 동물의 마취를 위하여 졸레틸50과 림핀의 1:2 혼합액 30 μL를 사용하여 근육주사로 마취시킨 후, 복부를 알코올로 소독한 다음 4~5 cm 정도로 중앙선을 따라

개복술을 실시하였다. 그리고 맹장을 꺼내어 1×2 cm² 크기로 사포를 이용하여 출혈이 일어날 정도로 장막에 손상을 가하고, 마주 보이는 복강막에 같은 크기로 사포로 손상을 가하였다. 총 세 그룹으로 나누어 실험을 진행하였다. 생리식염수만 처리한 음성 대조군과 시판되고 있는 히아루론산 조성의 주사 제형 제품을 양성 대조군으로 하고 실험군의 경우에는 CECH/PEO=3:3 고분자 용액을 방사한 나노섬유 지지체를 실험군으로 사용하였다. 손상된 복강막에 세 그룹을 처치한 후, 복강막을 봉합하고, 피부도 마찬가지로 봉합하였다. 수술이 끝난 동물은 물과 먹이를 충분히 주면서 1주일간 키운 후 희생시켜 유착의 정도를 평가하였다. 유착의 정도에 대한 평가는 Vlahos's scoring system 등의 방법에 따라 실시하였다.⁷ 유착의 세기를 0에서 4까지 5등급으로 분류하며, 1등급은 필름형이며 매우 약한 힘으로도 떨어지는 유착, 2등급은 중간 정도의 힘이 요구되는 유착, 3등급은 상당한 압력이 걸려야 떨어 수 있는 유착, 4등급은 유착이 매우 강해서 떼기 힘들거나, 매우 큰 압력이 요구되는 경우로 분류하였다. 실험의 객관성을 확보하기 위해서 유착의 평가는 실험군을 알지 못하는 제 3자에 의해 이루어졌다.

조직학적 평가. 수술 후, 7일째 실험 동물을 과량의 에테르로 희생시켜 생리 식염수로 혈관에 관류한 후 10% 중성 포르말린 용액으로 혈관에 관류시켜 육안 소견과 현미경적 소견에 따라 상처의 유착도(tenacity)를 평가하였다. 조직학적 평가를 위한 염색은 수술부위를 근육층과 경막을 포함하여 떼어낸 후 10% 중성포르말린용액에 24시간 동안 넣어 고정시킨다. 탈골화 용액에 48시간 넣어 충분히 탈골시킨 후 알코올로 건조시키고 파라핀 블록을 만들었다. 이 블록을 6~8 μm 두께로 절편을 만들어 헤마톡실린-에오신(hematoxylin-eosin) 염색을 하였고 현미경을 통해 조직학적 평가를 하였다.

결과 및 토론

수용성 키토산의 구조분석. 제조한 수용성 키토산의 구조는 적외선 분광 광도계와 핵자기 공명장치를 이용하여 분석하였다. Figure 1의 ¹H NMR스펙트럼에서 일반적인 키토산의 특성 피크를 확인할 수 있었다. 아세트아마이드 그룹에서의 메틸기의 수소가 약 2 ppm에서 나타났으며, 3.0-4.5 ppm 사이에서 나타나는 수소의 특성 피크를 확인하였다. D₂O에 용해시킨 CECH의 경우 2.61 ppm에서 메틸 그룹과 3.42 ppm과 3.67-4.5 ppm에서 알킬화 피크를 관찰할 수 있었다.⁸ FTIR을 통해 나노섬유의 화학적 구조를 분석하였다. Figure 2에서 보는 바와 같이 CECH의 피크를 CH의 피크와 비교할 때 1579 cm⁻¹ 근처영역에서 카복실기(COO⁻)의 피크는 키토산의 수용화가 이루어졌음을 증명하였다. CECH/PEO 조성에서는 CECH에서 보이는 1412, 1553 cm⁻¹ 영역에서의 카복실기(COO⁻) 피크와 PEO에서 보이는 1098 cm⁻¹ 영역에서의 에테

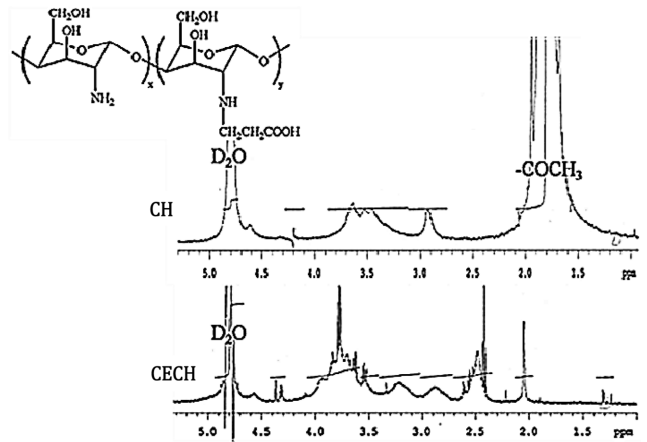


Figure 1. ¹H NMR spectra of CH and CECH with D₂O/ CD₃COOD as solvent.

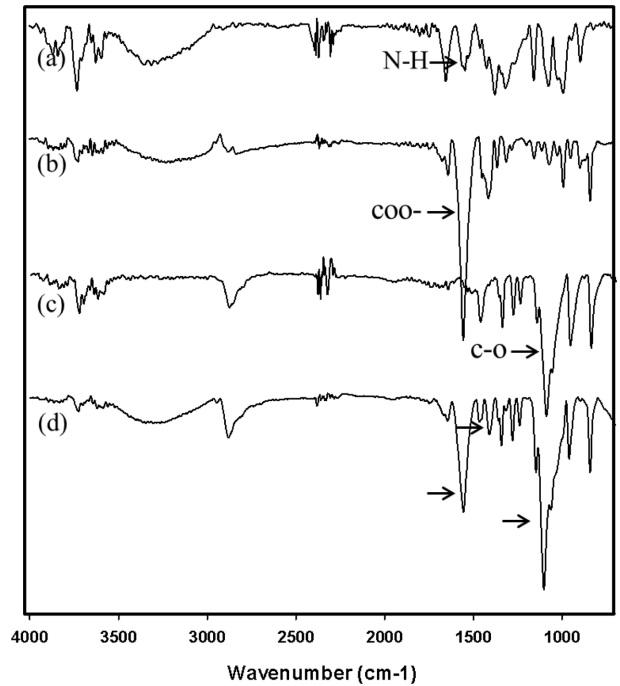


Figure 2. FTIR spectra for CECH/PEO fiber mats: (a) pure CH; (b) CECH; (c) PEO; (d) CECH/PEO (3:3) fiber sheets.

르기(C-O, ether) 피크를 보였다. 이는 CECH와 PEO의 혼합액을 방사시켜 제조한 나노섬유에 각 성분이 잘 혼합되어 있는 것으로 판단된다.

열분석. Figure 3은 CECH/PEO 조성 나노섬유와 그 원료인 CECH, PEO 분말의 DSC 곡선을 나타낸 그래프이다. CECH/PEO(3:3) 조성으로 방사시킨 나노섬유의 DSC 곡선과 CECH, PEO의 DSC 곡선이 일치하는 것을 관찰할 수 있으며, 이는 두 고분자의 복합방사가 원활히 이루어졌다는 것을 의미한다. 또한 DSC 곡선을 통해 원료의 결정간의 용점을 관

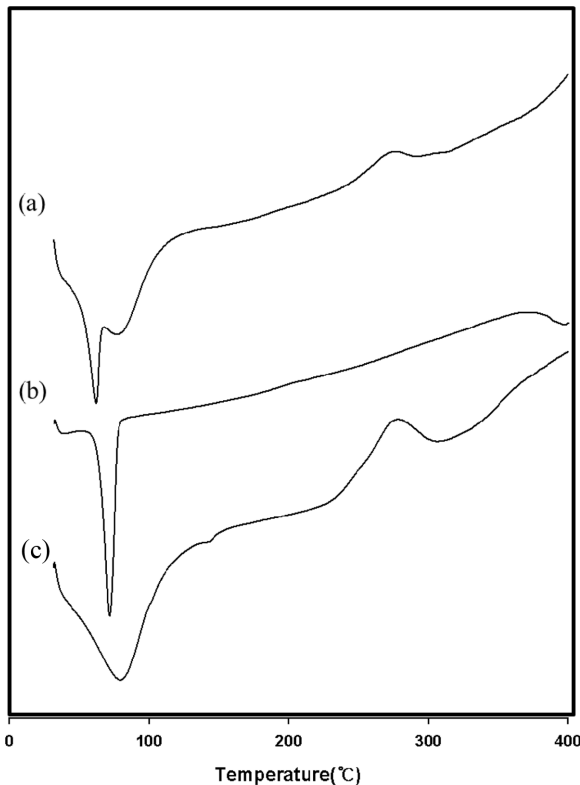


Figure 3. Differential scanning calorimetry curves of (a) CECH; (b) PEO; the fiber sheets with (c) CECH:PEO (3:3) weight ratio.

찰할 수 있는데, 60~80 °C 사이에서 하단부로 내려간 피크에서는 결정화된 고분자의 녹는 상태로 흡열 과정을 나타내고 있으며, 270°C에서 올라간 피크는 발열 반응에 기인한 것으로 공기나 산소의 존재 하에 가열할 때 나타나는 특성이라고 볼 수 있다. 특히, CECH와 PEO 분말은 거의 크고 예리한 흡열 피크를 보였으나 CECH/PEO 조성의 피크의 폭이 넓어지는 것을 확인할 수 있었다. 이것은 전기 방사된 섬유의 결정체의 미세구조가 전기방사 동안 뻗어있는 사슬(stretched

Table 1. Viscosity of Polymer Solution

Sample	Viscosity (20 °C, cps)
CECH/PEO(1:5)	45900±915
CECH/PEO(2:4)	4800±144
CECH/PEO(3:3)	3515 ±127
CECH/PEO(4:2)	3510±105
CECH/PEO(5:1)	1840±203

chains)의 빠른 고체화 과정 때문에 결정성 미세구조가 발달하지 않고 사슬의 다수가 비결정 상태로 존재하기 때문에 나타난 현상으로 생각된다.⁹

고분자 용액의 점도. 전기방사장치를 이용한 나노섬유 제조시 점도와 전도도(conductivity)를 조절하기 위해 PEO, poly(vinyl alcohol), silk fibroin 등과 같은 비이온 고분자를 혼합하여 나노섬유를 제조하고 있다.^{10,11} 특히, PEO는 뛰어난 생체 적합성과 낮은 독성 때문에 의료용으로 미국 FDA의 승인을 받은 고분자로 의료용 소재 개발에 활발히 활용되고 있다. 전기방사에 의해 만들어지는 나노섬유 형성에 미치는 PEO의 혼합 효과를 확인하기 위해 CECH/PEO(1:5, 2:4, 3:3, 4:2, 5:1) 조성으로 혼합한 고분자 용액의 점도를 측정하였다(Table 1). PEO의 함량이 클수록 높은 점도를 보였고 CECH의 함량이 클수록 점도가 낮아지는 것을 관찰하였다. 수용화시킨 키토산의 저분자화로 CECH의 함량이 증가될수록 점도가 낮아지는 경향을 확인할 수 있었다.¹² 최고와 최저의 점도 값을 가지는 고분자 조성(1:5 혹은 5:1)에서는 방사가 이루어지지 않아 2:4, 3:3, 4:2 조성의 고분자 용액만 전기방사 실험에 활용하였다.

형태학적인 관찰. CECH/PEO 조성의 수용액으로 방사시킨 나노섬유 지지체의 구조를 알기 위하여 일정량의 시료를 적외선 분광기(FTIR, Shimadzu, 8201PC)로 분석하였다. CECH/PEO(2:4) 조성으로 혼합하여 만든 용액을 전기 방사하여 얻은 나노섬유를 SEM으로 관찰한 결과 방사된 섬유가

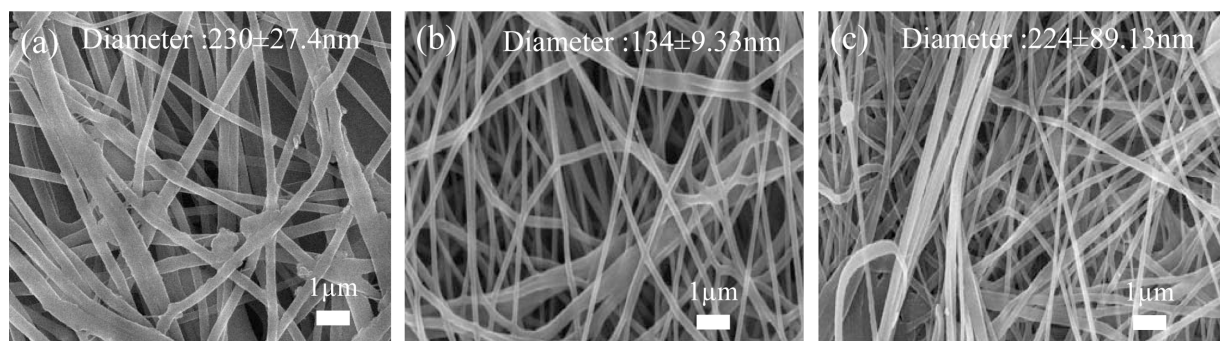


Figure 4. Scanning electron microscopy (SEM) images of (a) CECH/PEO (2:4) fiber sheets; (b) CECH/PEO (3:3) fiber sheets; (c) CECH/PEO (4:2) fiber sheets.

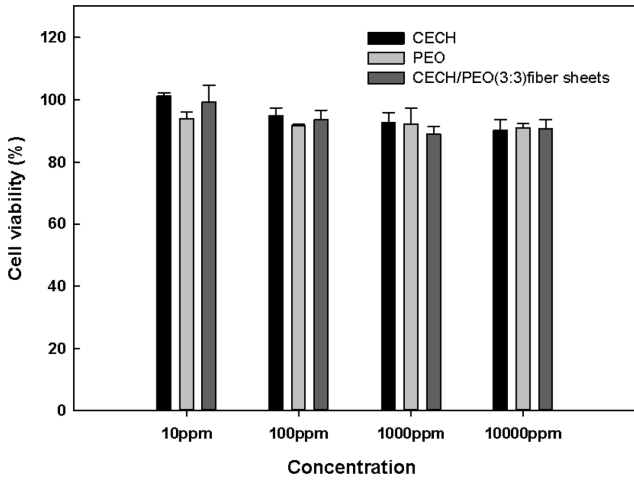


Figure 5. Indirect cytotoxicity evaluation of the CECH, PEO and CECH/PEO (3:3) fiber sheets at different extract media based on the viability of NIH/3T3 cells.

균일하지 않고 끊어지거나 비드가 형성이 되며 뭉쳐서 방사된 것을 관찰할 수 있다(Figure 4(a)). CECH/PEO(3:3) 조성으로 방사시킨 나노섬유(Figure 4(b))는 CECH/PEO(4:2) 조성으로 방사시킨 것(Figure 4(c))과 다르게 비교적 고르게 방사된 섬유형태(섬유의 직경; 134.2 ± 9.33 nm)를 나타낸다.

독성실험. 나노섬유 제조에 사용된 고분자의 세포 독성은 NIH/3T3를 이용한 MTT assay법으로 수행하였다(Figure 5).

CECH와 PEO 및 CECH와 PEO(3:3) 조성의 나노섬유 지지체를 농도별로 FBS가 없는 배지에 용해시켜 실험에 사용하였다. 각각의 고분자 수용액 및 용출액은 일반적인 농도 범위(10-10000 ppm)에서 90%를 넘는 세포 생존율을 보였다. 이로서 CECH/PEO 조성 나노섬유 지지체는 세포 독성이 없는 생체 소재로 체내 삽입이 가능한 생체 재료로 응용할 수 있다.

동물실험 및 조직학적 평가. CECH/PEO(3:3) 조성 나노섬유 지지체의 유착방지 효과를 관찰하기 위하여 맹장표면과 복막에 출혈이 일어날 정도의 인위적인 상처를 내어 강제 유착을 유도하고, 처치후 1주일 지난 후 회복하여 유착부위를 확인하였다(Figure 6). 음성 대조군은 생리식염수를 처리한 그룹 Figure 6(a)와 양성 대조군은 액체타입의 시판제품을 처리한 그룹인 Figure 6(b)로 나누며 실험군은 CECH/PEO(3:3) 조성의 나노섬유 지지체를 처리한 그룹을 Figure 6(c)에 나타냈다. 음성 대조군으로 사용한 생리식염수 그룹에서는 확실한 유착이 발생하였고 또한, 히아루론산 조성의 액체형 유착방지 제품을 처리한 그룹에서도 유착이 발현되는 것을 알 수 있었다. 액체타입의 경우 특정한 형태없이 액체상태로 녹아져 있어 수술 부위에 집중되지 못하고 복강내 전체적으로 퍼지는 문제점과, 중력에 의해 아래쪽으로 고이게 되는 단점이 많이 보고되고 있다.¹²

이해 비하여 CECH/PEO 조성의 나노섬유 지지체를 삽입한 그룹에서는 유착을 억제하는데 효과를 가지고 있음을 육안으로 관찰할 수 있었다(Figure 6). 음성 대조군인 생리 식

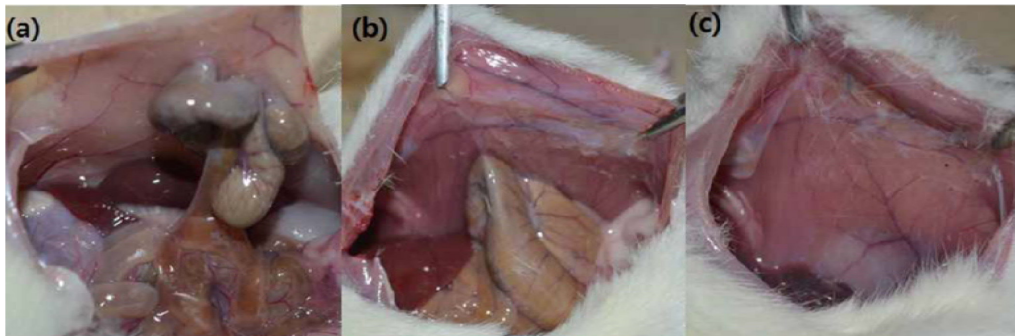


Figure 6. *In vivo* anti-adhesion effects of (a) negative control; (b) positive control in rats compared with (c) CECH/PEO fiber sheets. Adhesion was apparent in the (a, b) treated rat after surgical damage of the surfaces of the abdominal wall and cecum. No adhesion was observed in the CECH/PEO fiber sheets-treated rat 7 days after the surgery and the wounds to the peritoneum and cecum were healed.

Table 2. Postoperative Adhesion Formation Rates, Grades and Score for Groups

Group	No. of rats	Adhesion grades						Mean of score	Adhesion rate (%)
		0	1	2	3	4	5		
Negative control group	5	0	0	0	0	2	3	4.6	5/5(100)
Positive control group	5	0	1	2	2	0	0	2.2	5/5(100)
CECH/PEO(3:3) fiber sheets	5	4	1	0	0	0	0	0.2	1/5(20)

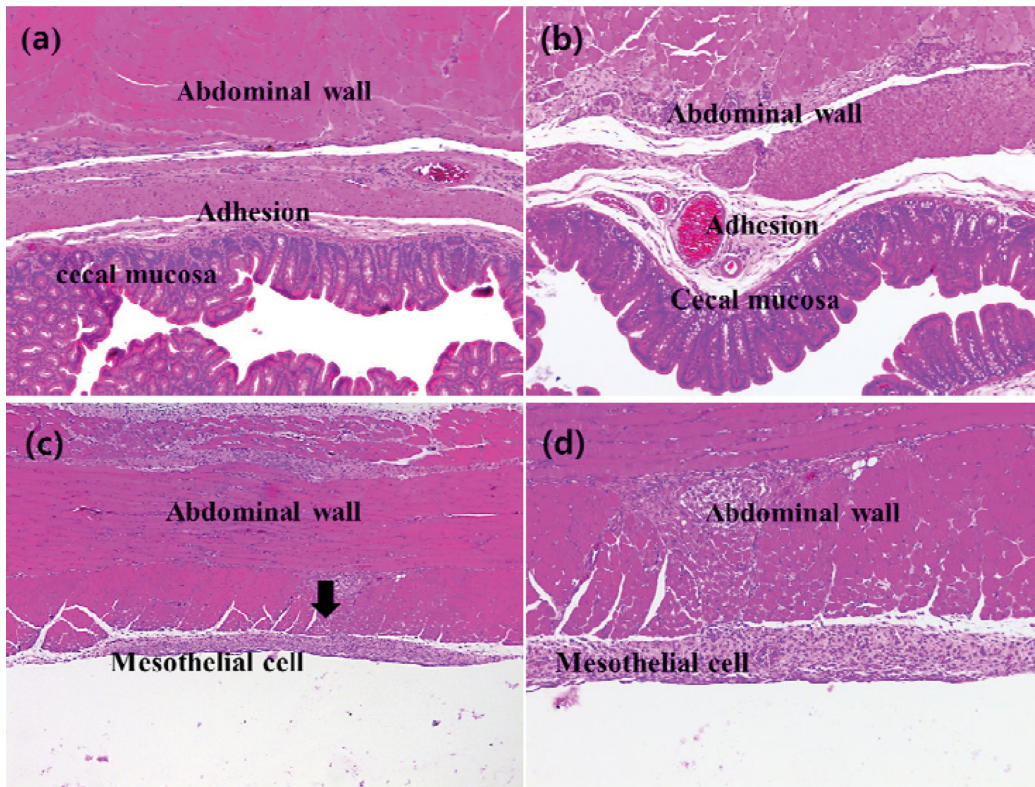


Figure 7. Histological observation of damaged tissues in rats with: (a) negative control; (b) positive control; (c) CECH/PEO (3:3) fiber sheets ($\times 100$); (d) CECH/PEO (3:3) fiber sheets ($\times 400$) applied post-damage.

염수 처리군에서 유착 정도는 4.6점으로 아주 강한 유착 형성 정도를 보여주었고, 히아루론산 조성의 액체형 시판 제품을 처리한 양성 대조군은 2.2점으로 평가되었다. 하지만, 실험군에서는 유착 정도는 0.2점으로 나타났으며 7일 이후에 복강 내 삽입한 나노섬유 지지체는 완전히 분해되었음을 확인하였다(Table 2). 이는 두 대조군에 비해 CECH/PEO(3:3) 조성의 나노섬유 지지체가 높은 유착방지 효능을 보여주는 것을 확인할 수 있었다. Kim 등은 수용화시킨 키토산은 생체 적합성 및 친수성에 의해 상처치유효과를 향상시켜 주는 것으로 보고하였다.¹³

또한 조직학적 평가는 동물 실험 일주일 후 회복하고 조직에 헤마톡실린 에오신(Hematoxylin-Eosin)으로 염색하여 현미경으로 관찰하였다. Figure 7을 보면 (a)는 생리식염수를 처리한 음성 대조군이고, (b)는 히아루론산 조성의 액체형으로 처리한 양성 대조군, (c)는 전기방사하여 얻은 CECH/PEO 조성의 나노섬유 지지체로 실험한 실험군 rat의 조직학적 결과이고, (d)는 (c)의 조직을 고배율($\times 400$)로 관찰한 사진이다. (a)와 (b)는 상처를 입힌 맹장과 복막이 유착된 것을 조직에서 확인할 수 있다. 반면에, 나노섬유 지지체를 처리한 실험군에서 유착이 발생하지 않았으며(Figure 7(c), (d)) 상처치유가 자연스럽게 이루어진 것을 확인할 수 있었다.

나노섬유 지지체를 처리하였을 때 세포 증식과 혈관 형성에 적절한 억제 및 분해와 흡수 과정의 반복으로 조직간의 장벽에 중피층(mesothelial layer)이 재생된 것으로 CECH/PEO 조성의 나노섬유 지지체가 유착방지제로 활용할 수 있음을 확인할 수 있었다.

결론

본 연구에서는 복강 내 유착 방지제를 개발하기 위해 CECH와 PEO를 혼합한 용액을 전기방사를 통해 나노섬유 지지체를 제조하였다. CECH와 PEO를 3:3 비율로 혼합한 지지체는 적외선 분광기를 통해 각 물질 고유의 피크를 확인하였고, 시차 주사 열량 측정법을 통해 CECH와 PEO 조성의 고분자가 잘 혼합되어 있음을 확인할 수 있었다. 또한 주사전자현미경으로 관찰한 결과 나노섬유 지지체의 표면 형태 및 나열된 방사형태를 관찰할 수 있었고, 세포독성 평가를 통해 생체 내 적용 가능성을 확인할 수 있었다. 제조된 나노섬유 지지체를 인위적으로 상처를 낸 rat의 복강 내에 처리한 결과 유착 방지막 역할을 하는 것을 조직학적 평가를 통해 알 수 있었다. 이러한 결과로서 CECH/PEO 조성의 나노섬유 지지체는 복강 내 유착방지막으로 활용 가능성을 확인할 수 있었다.

감사의 글: 이 논문은 2015년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초 연구 사업임(No. 2015H1C1A1035894).

참 고 문 헌

1. A. D. Li, Z. Z. Sun, M. Zhou, X. X. Xu, J. Y. Ma, W. Zheng, H.M. Zhou, L. Li, and Y. F. Zheng, *Colloid Surf. B-Biointerfaces*, **102**, 674 (2013).
2. M. P. Diamond, E. L. Burns, B. Accomando, S. Mian, and L. Holmdahl, *Gynecol. Surg.*, **9**, 237 (2012).
3. M. P. Diamond, E. L. Burns, B. Accomando, S. Mian, and L. Holmdahl, *Gynecol. Surg.*, **9**, 247 (2012).
4. L. Gargo, G. Saed, E. Elhammady, and M. P. Diamond, *Fertil. Steril.*, **86**, 1223 (2006).
5. H. J. Song, J. W. Kim, J. S. Park, Y. S. Kim, Y. S. Choi, B. G. Kim, S. J. Cha, S. J. Park, I. T. Chang, S. I. Park, E. S. Park, and S. A. Hong, *J. Korean Surg. Soc.*, **77**, 7 (2009).
6. H. Hebing, Y. Lin, T. Songwei, T. Kehua, and L. Q. Wang, *Carbohydr. Res.*, **345**, 462 (2010).
7. A. Vlahos, P. Yu, C. E. Lucas, and A. M. Ledgerwood, *Am. Surg.*, **67**, 15 (2001).
8. Y. Zhou, D. Yang, G. Ma, H. Tan, Y. Jin, and J. Nie, *Polym. Adv. Technol.*, **19**, 1133 (2008).
9. Y. S. Zhou, D. Z. Yang, X. M. Chen, Q. Xu, F. M. Lu, and J. Nie, *Biomacromolecules*, **9**, 349 (2008).
10. V. Gimenez, A. Mantecon, and V. Cadiz, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **34**, 925 (1996).
11. M. Krumora, D. Lopez, R. Benarente, C. Mijangos, and J. M. Perena, *Polym. Korea*, **41**, 9265 (2000).
12. Y. W. Lee, B. Y. Chu, Y. G. Lee, N. H. Kim, J. H. Kim, K. I. Kim, and S. W. Kwon, *J. Korean Surg. Soc.*, **76**, 73 (2009).
13. D. Y. Kim, S. M. Bang, C. J. Kim, W. I. Kim, and H. O. Kwon, *Text. Sci. Eng.*, **52**, 104 (2015).