



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0047958
(43) 공개일자 2019년05월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61F 2/82 (2006.01) A61K 31/65 (2006.01)
A61K 47/34 (2017.01) A61K 9/00 (2006.01)
A61L 31/10 (2006.01) A61L 31/16 (2006.01)
A61M 31/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61F 2/82 (2013.01)
A61K 31/65 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2017-0142370

(22) 출원일자 2017년10월30일

심사청구일자 2017년10월30일

(71) 출원인

인하대학교 산학협력단

인천광역시 미추홀구 인하로 100(용현동, 인하대학교)

(72) 발명자

양수근

인천광역시 서구 승학로495번길 7, 110동 602호
(검암동, 서해그랑블)

(74) 대리인

네이트특허법인

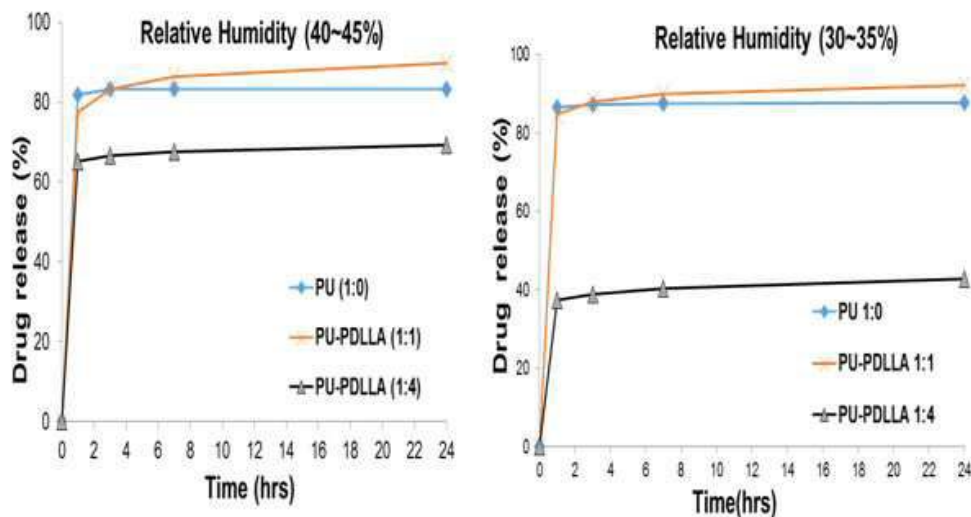
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 코어-셸 나노 섬유로 코팅된 독시사이클린 용출용 스텐트

(57) 요약

본 발명은 스텐트 본체와, 상기 스텐트의 표면에 동축 전기방사법(coaxial electrospinning)에 의해 코어(core)-셸(shell) 구조로 코팅되는 나노 섬유로서, 상기 코어는 독시사이클린이 로딩되어 있는 제 1 생체적합성 고분자로 이루어지며, 상기 셸은 제 2 생체적합성 고분자로 이루어지는 나노 섬유를 포함하는 독시사이클린 용출용 스텐트 및 그 제조 방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 스텐트를 사용하여 특히 기관지염 등을 유발하는 독시사이클린이 용출되어, 조직 내의 염증 반응 및 이로 인하여 야기될 수 있는 섬유증(fibrosis)을 예방, 치료하는데 활용될 수 있다.

대표도 - 도7



(52) CPC특허분류

A61K 47/34 (2013.01)
A61K 9/0092 (2013.01)
A61L 31/10 (2013.01)
A61L 31/16 (2013.01)
A61M 31/002 (2013.01)
A61F 2240/002 (2013.01)
A61F 2250/0067 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2017R1A2A2A07001272
부처명	과학기술정보통신부
연구관리전문기관	한국연구재단
연구사업명	개인연구사업 (중견연구)
연구과제명	악성 및 양성 인체내강협착증의 치료를 위한 자극반응 약물방출제어형 스텐트 의료기기의 설계 및 평가
기 여 율	1/1
주관기관	인하대학교
연구기간	2017.03.01 ~ 2018.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

스텐트(stent) 본체; 및

상기 스텐트 본체의 표면에 동축 전기방사법(coaxial electrospinning)에 의해 코어(core)-셸(shell) 구조로 코팅되는 나노 섬유로서, 상기 코어는 독시사이클린이 로딩되어 있는 제 1 생체적합성 고분자로 이루어지며, 상기 셸은 제 2 생체적합성 고분자로 이루어지는 나노 섬유

를 포함하는 독시사이클린 용출용 스텐트.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 제 1 생체적합성 고분자는 폴리우레탄인 것을 특징으로 하는 독시사이클린 용출용 스텐트.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 제 2 생체적합성 고분자는 폴리락타이드인 것을 특징으로 하는 독시사이클린 용출용 스텐트.

청구항 4

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 제 1 생체적합성 고분자와 상기 제 2 생체적합성 고분자는 1:1 내지 1:4의 중량비로 형성되는 독시사이클린 용출용 스텐트.

청구항 5

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 독시사이클린은 상기 코어를 구성하는 제 1 생체적합성 고분자에 대하여 5 내지 20 중량%의 비율로 로딩되어 있는 것을 특징으로 하는 독시사이클린 용출용 스텐트.

청구항 6

스텐트 본체를 준비하는 단계; 및

상기 스텐트 본체의 표면에 동축 전기방사법(coaxial electrospinning)에 의해 코어(core)-셸(shell) 구조의 나노 섬유를 코팅하는 단계로서, 상기 코어는 독시사이클린이 로딩되어 있는 제 1 생체적합성 고분자로 이루어지며, 상기 셸은 제 2 생체적합성 고분자로 이루어지는 나노 섬유를 코팅하는 단계를 포함하는 독시사이클린 용출용 스텐트를 제조하는 방법.

청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 나노 섬유를 코팅하는 단계는 상대 습도 30 내지 45%의 대기 조건에서 수행되는 것을 특징으로 하는 독시사이클린 용출용 스텐트를 제조하는 방법.

청구항 8

제 6항에 있어서,

상기 코어를 형성하는 제 1 생체적합성 고분자를 함유하는 용액은 0.2 내지 0.4 ml/hour의 유속으로 토출되며, 상기 셸을 형성하는 제 2 생체적합성 고분자를 함유하는 용액은 0.5 내지 4.0 ml/hour의 유속으로 토출되는 것을 특징으로 하는 독시사이클린 용출용 스텐트를 제조하는 방법.

청구항 9

제 6항에 있어서, 상기 제 1 생체적합성 고분자는 폴리우레탄인 것을 특징으로 하는 독시사이클린 용출용 스텐트를 제조하는 방법.

청구항 10

제 6항에 있어서, 상기 제 2 생체적합성 고분자는 폴리락타이드인 것을 특징으로 하는 독시사이클린 용출용 스텐트를 제조하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 특허출원은 대한민국정부 과학기술정보통신부의 “개인연구사업(중견연구)”의 일환으로서 "악성 및 양성 인체내강협착증의 치료를 위한 자극반응 약물방출제어형 스텐트 의료기기의 설계 및 평가"(주관기관: 인하대학교 산학협력단, 과제번호: 2017R1A2A2A07001272)), 인하대학교의 WCSL(World Class Smart Lab) 연구지원 사업의 수행 결과물에 관한 것이다.

[0002] 본 발명은 약물 용출용 스텐트에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 전기방사 공정을 통하여 코어-셸 구조의 나노 섬유를 포함하는 독시사이클린 용출 스텐트 및 그 응용에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 스텐트(stent)는 혈관(vessel)이나 관(duct)의 내강(lumen) 내부로 삽입되는 금속 또는 플라스틱 튜브로 사용되어 약물과 함께 또는 약물 없이 질병을 치료하는데 사용되는 작은 그물 형상 튜브(mesh tube)이다. 즉, 스텐트란, 혈관, 위장관, 담도 등의 관에서 혈액이나 체액의 흐름이 악성 혹은 양성질환의 발생으로 협착되었을 때, 외과적 수술을 시행하지 않고 X-선 투시 하에서 좁아지거나 막힌 부위에 삽입하여 협착된 부위를 개방시켜 혈액이나 체액의 흐름을 정상화시키는데 사용되는 원통형의 의료용 소재이다. 통상적으로는 이들 혈관이나 관에서 폐쇄되거나 협착이 있는 부위를 풍선으로 확장시킨 후 스텐트를 설치하는데, 내강을 확보하는 작용기전에 따라 풍선을 이용하는 풍선확장형과, 형상기억합금을 이용하는 자가 팽창식 스텐트로 구분된다.

[0004] 형태에 따라 스텐트는, 베어 메탈 스텐트(bare metal stent, BMS)와 약물 용출 스텐트(drug eluting stent, DES)로 구분될 수 있다. 베어 메탈 스텐트는 조직에 삽입된 스텐트 내에서 상처 조직(scar tissue)의 성장에 기인하는 재협착(restenosis) 속도가 증가하는 문제점이 있다. 베어 메탈 스텐트가 가지는 재협착의 문제점을 방지하기 위하여, 약물 용출 스텐트는 장기간 약물을 방출하면서 삽입된 스텐트 주위의 조직에서 상처가 형성되는 것을 차단할 수 있도록 약제로 코팅된다. 이때, 약물은 동맥 폐색 부위로 전달되어 재협착을 방지하는데, 비-분해성 금속으로 제조되는 1세대 DES, 풍선으로 팽창되며 생분해성(biodegradable) 및 생체적합성(biocompatible) 고분자로 제조되는 2세대 DES, 스텐트 상부에 고분자와 약물이 함께 존재하도록 코팅되어 있으며, 생분해성 및 생체흡착성(bio absorbable) 고분자 스텐트인 3세대 DES, 조직에 삽입된 후에 사라지는(disappearing) 4세대 DES로 구분되기도 한다.

[0005] 생체 조직에 삽입될 수 있는 스텐트를 활용하여 질환의 치료 및 예방을 포함하여 다양한 의약적 기능을 부여하기 위한 시도가 있었다. 일례로, 대한민국등록특허 제10-1116673호에서는 금속 스텐트의 표면을 산화티타늄으로 코팅하고 코팅된 표면을 개질시켜 히드록시기를 도입한 산화티타늄, 약물 작용기가 산화티타늄의 히드록시기가

결합된 약물층 및 올리고뉴클레오타이드가 약물과 결합하여 부착된 올리고뉴클레오타이드층으로 이루어진 유전자 전달 스텐트와 그 제조 방법을 개시하고 있다.

[0006] 하지만, 생체 조직으로 효율적으로 삽입될 수 있을 정도로 충분히 얇으면서도 의도하였던 의약적 효과를 구현할 수 있는 스텐트에 대한 관심은 여전히 존재한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 전술한 종래 기술의 문제점을 해소하기 위하여 제안된 것으로, 본 발명의 목적은 독시사이클린이 효율적이고 적절하게 용출될 수 있도록 설계된 스텐트 및 스텐트를 제조하는 방법을 제공하고자 하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 전술한 목적을 가지는 본 발명의 일 측면에 따르면, 본 발명은 스텐트(stent) 본체; 및 상기 스텐트 본체의 표면에 동축 전기방사법(coaxial electrospinning)에 의해 코어(core)-셸(shell) 구조로 코팅되는 나노 섬유로서, 상기 코어는 독시사이클린이 로딩되어 있는 제 1 생체적합성 고분자로 이루어지며, 상기 셸은 제 2 생체적합성 고분자로 이루어지는 나노 섬유를 포함하는 독시사이클린 용출용 스텐트를 제공한다.

[0009] 예를 들어, 상기 제 1 생체적합성 고분자는 폴리우레탄인 것을 특징으로 한다.

[0010] 또한, 상기 제 2 생체적합성 고분자는 폴리락타이드일 수 있다.

[0011] 예시적인 실시형태에서, 상기 제 1 생체적합성 고분자와 상기 제 2 생체적합성 고분자는 1:1 내지 1:4의 중량비로 성형될 수 있다.

[0012] 이때, 상기 독시사이클린은 상기 코어를 구성하는 제 1 생체적합성 고분자에 대하여 5 내지 20 중량%의 비율로 로딩될 수 있다.

[0013] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 본 발명은 스텐트 본체를 준비하는 단계; 및 상기 스텐트 본체의 표면에 동축 전기방사법(coaxial electrospinning)에 의해 코어(core)-셸(shell) 구조의 나노 섬유를 코팅하는 단계로서, 상기 코어는 독시사이클린이 로딩되어 있는 제 1 생체적합성 고분자로 이루어지며, 상기 셸은 제 2 생체적합성 고분자로 이루어지는 나노 섬유를 코팅하는 단계를 포함하는 독시사이클린 용출용 스텐트를 제조하는 방법을 제공한다.

[0014] 예를 들어, 상기 나노 섬유를 코팅하는 단계는 상대 습도 30 내지 45%의 대기 조건에서 수행될 수 있다.

[0015] 또한, 상기 코어를 형성하는 제 1 생체적합성 고분자를 함유하는 용액은 0.2 내지 0.4 ml/hour의 유속으로 토출되며, 상기 셸을 형성하는 제 2 생체적합성 고분자를 함유하는 용액은 0.5 내지 4.0 ml/hour의 유속으로 토출되는 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0016] 본 발명은 동축 전기방사를 이용하여 독시사이클린이 로딩되어 있는 제 1 생체적합성 고분자로 이루어지는 코어와, 제 2 생체적합성 고분자로 이루어지는 셸로 이루어지는 나노 섬유가 스텐트 본체 표면에 코팅된 독시사이클린 용출용 스텐트 및 그 제조 방법을 제안한다. 동축 전기방사 공정을 통하여 독시사이클린을 코어에 로딩되어 있는 나노 섬유로 코팅된 스텐트를 조직에 삽입하면, 독시사이클린의 용출을 제어하여, 스텐트 삽입 등으로 야기되는 염증 반응에 의해 유도되는 조직 내 섬유증을 치료, 또는 예방하는데 활용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 본 발명의 예시적인 실시예에 따라 전기방사법을 이용하여 코어-셸 구조의 나노 섬유를 제조하는 과정을 개략적으로 도시한 도면이다. 우측에는 코어-셸 나노 섬유를 제조하기 위한 이중 노즐의 형상을 보여준다.

도 2는 전기방사 공정에서 사용된 전기방사 기기, 코어-셸 니들 구조, 독시사이클린 용출용 코어-셸 고분자로 코팅된 스텐트의 형상을 도시하고 있다.

도 3은 본 발명의 예시적인 실시예에 따라 전기방사법을 이용하여 제조된 코어-셸 나노 섬유의 형광현미경 사진이다.

도 4는 본 발명의 예시적인 실시예에 따라 전기방사법을 이용하여 제조된 코어-셸 나노 섬유에 대한 주사전자현미경(SEM) 사진이다.

도 5는 본 발명의 예시적인 실시예에 따라 전기방사법을 이용하여 제조된 코어-셸 나노 섬유에 대하여 각각 다른 습도 조건에서 촬영한 주사전자현미경(SEM) 사진이다.

도 6은 본 발명의 예시적인 실시예에 따라 전기방사법을 이용하여 제조된 코어-셸 나노 섬유에 대한 투과전자현미경(TEM) 사진이다.

도 7은 본 발명의 예시적인 실시예에 따라 전기방사법을 이용하여 제조된 코어-셸 나노 섬유가 시험관 내에서 로딩된 독시사이클린을 농도 의존적으로 용출하는 측정 결과를 나타낸 그래프이다.

도 8은 본 발명의 예시적인 실시예에 따라 전기방사법을 이용하여 제조된 코어-셸 나노 섬유가 코팅된 스텐트를 토끼 모델의 기관지에 삽입하여 독시사이클린 용출에 따른 해당 기관지에 대한 내시경 사진을 나타낸다.

도 9는 본 발명의 예시적인 실시예에 따라 전기방사법을 이용하여 제조된 코어-셸 나노 섬유가 코팅된 스텐트를 토끼 모델의 기관지에 삽입하고, 독시사이클린 용출에 따른 H&E 염색 및 MT 염색으로 분석한 기관지를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0018] 이하, 필요한 경우에 첨부하는 도면을 참조하면서 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [0019] 본 발명은 예를 들어 조직 삽입용 스텐트 본체의 표면으로 전기방사법을 이용하여 형성될 수 있는 코어-셸(core-shell) 구조를 가지는 나노 섬유가 코팅된 독시사이클린 약물을 방출하기 위한 스텐트 및 그 제조 방법에 관한 것이다.
- [0020] 전기방사(electrospinning)는 전기장을 이용하여 나노 스케일의 직경을 갖는 연속상의 섬유를 구현하는 방법이다. 기존에 알려진 자기조립(self assembly), 상분리(phase separation), 주형합성(template synthesis) 등의 방법과 비교하여 전기방사는 매우 간단하고 소재의 선택에 제한이 없을 뿐만 아니라, 높은 비표면적, 공극률 및 구조/크기 조절의 용이성 등에 기인하는 다양한 특성을 바탕으로 산업적 응용에 많은 관심을 받고 있다. 일반적으로 전기방사는 전기적으로 하전된 고분자 용액, 고분자 용융물은 물론이고 복합재(composite) 및/또는 세라믹 용액 및 용융물의 젯(jet)을 통해 나노 섬유를 제조할 수 있다.
- [0021] 전기방사 장치는 크게 고전압 전원(power supply), 방적돌기(spinneret), 섬유를 수집하는 집진판(collector)로 이루어진다. 펌프를 통해 원료인 고분자 용액 등을 일정한 속도로 유입량을 조절하여 방적돌기 역할을 하는 노즐(nozzle)을 통해 노출시킨다. 이때, 한쪽 전극은 전원과 노즐 팁(tip)을 연결하여 토출되는 고분자 용액에 전하를 주입하여 하전시키고, 반대 전극은 집진판에 연결한다.
- [0022] 노즐 끝단으로 토출된 고분자의 표면 장력에 의해 반구형을 이루는데, 통상적으로 0 내지 30 kV의 고전압을 노즐 팁에 인가하면, 1) 표면 전하 사이의 상호 정전기적 반발력과, 2) 외부 전기장에 작용된 쿨롱력에 의해 액상 고분자 방울이 원뿔 형상의 깔때기 형상(Taylor cone 형상)으로 연신된다. 즉, 특정 세기의 전기장이 고분자 용액 등과 접촉된 노즐 팁에 인가되면, (+) 또는 (-)의 한쪽 전하가 고분자 용액에 계속 축적되며, 같은 전하의 상호 반발력에 의하여 고분자 용액이 가지는 표면장력을 넘어서면서 노즐 팁의 반구 형상이 Taylor cone 형상의 jet로 방사-연신되는데, 반대쪽 전하로 하전되거나 접지된 집진판 방향으로 섬유들이 모아지면서 나노 크기의 섬유층 생성물을 제조할 수 있다. 전기방사는 매우 간단하면서도, 유연하게 적용될 수 있으며, 비용 효율적인 방법으로 나노 섬유를 제조할 수 있는 방법이다.
- [0023] 특히, 동축 전기방사(coaxial electrospinning)는 2개의 고분자 용액 등을 내부에 삽입된 노즐과 외부 노즐의 이중 노즐을 통해 독립적으로 토출시키면서 전기방사를 수행하는 방법이다. 2개의 고분자 용액이 서로 섞이지 않으면서, 고전압 전원으로부터 인가되는 전압에 의해 형성되는 전기장에 의하여 2개의 jet가 형성 및 연신되어, 코어-셸 구조의 나노 섬유를 얻을 수 있다. 2개의 상이한 고분자를 적용하여 이중 구조의 나노 섬유를 제조할 수 있으며, 특히 기능성 나노 입자를 나노 섬유 내에 선택적으로 분포시킬 수 있어서 효율성이 개선된 나노 섬유를 제조할 수 있다(도 1 및 도 2 참조).
- [0024] 노즐은 전기방사 장치의 내부에 장전된 용액을 외부로 방사하는 부재로서, 예를 들어 스테인리스 스틸과 같은 내부식성이 우수한 금속으로 제조될 수 있다. 노즐은 필요에 따라 원통형 또는 막대형일 수 있다. 집진기(collector)는 이중 노즐로부터 토출된 생체적합성 고분자 용액을 집적하는데, 이중 노즐 측에 인가된 전압과

반대극성의 전압이 인가된다. 집진기의 형태는 원형, 장방형 등 단면적이 넓은 판 형태로 제작될 수 있으며, 집진기는 예를 들어 전도성이 우수한 금속 소재로 이루어질 수 있다. 전원은 노즐 및 집진기에 극성이 다른 두 전압을 각각 인가하여 전위차를 발생시킨다. 필요한 경우, 집진기가 5 내지 2000 m/min의 권취 속도로 회전하도록, 집진기는 회전 모터에 연결될 수 있다.

[0025] 본 발명에 따라 나노 섬유가 표면에 코팅되는 스텐트 본체는 협착된 혈관 혹은 도관, 예를 들어 기관 조직의 도관 등에 삽입될 수 있는 장치이다. 예시적인 실시형태에서, 스텐트 본체는 니켈-티타늄 합금, 코발트-크롬과 같은 형상기억합금이나 스테인리스 스틸 등의 금속 소재로 이루어질 수 있다. 예를 들어, 스텐트 본체는 복수의 와이어가 그물 형상(mesh)으로 서로 엮여 구성되는 와이어형 스텐트 또는 원통형 튜브를 레이저 공정으로 가공한 레이저 커팅형 스텐트일 수 있다.

[0026] 본 발명과 관련해서 코어를 구성하는 제 1 생체적합성(biocompatible) 고분자 용액과, 셸을 구성하는 제 2 생체적합성 고분자 용액이 서로 섞이지 않도록 적절한 용매를 선택할 필요가 있다. 일례로, 코어를 형성하는 제 1 생체적합성 고분자 용액이 토출되는 내부 노즐과, 셸을 형성하는 제 2 생체적합성 고분자 용액이 토출되는 외부 노즐에 각각 N,N-디메틸포름아마이드(N,N-dimethylformamide, DMF), 테트라하이드로퓨란(tetrahydrofuran, THF), 디메틸아세트아마이드(dimethylacetamide, DMAC), 아세톤, 에탄올 및 이들의 조합으로 구성되는 군에서 선택되는 유기용매를 사용할 수 있다.

[0027] 나노 섬유의 코어와 셸을 구성하는 생체적합성 고분자는 생체 조직에서의 세포외 기질(extracellular matrix, ECM)에서 조직 재형성을 유도하며, 세포 성장 및 세포 분화를 중재한다. 따라서 적절한 생체적합성 고분자를 선택할 필요가 있다. 예를 들어, 나노 섬유의 코어를 구성하는 제 1 생체적합성 고분자와, 나노 섬유의 셸을 구성하는 제 2 생체적합성 고분자는 각각 폴리비닐알코올, 폴리에틸렌글리콜, 폴리락타이드, 폴리글리콜라이드, 폴리에틸렌 옥사이드, 폴리디옥사논, 폴리카프로락톤, 폴리포스파젠, 폴리안하이드라이드, 폴리아미노산, 셀룰로오스 아세테이트 부틸레이트, 셀룰로오스 트리아세테이트, 폴리아클릴레이트, 폴리아크릴아미드, 폴리우레탄, 폴리실록산, 폴리비닐피롤리돈 및 이들의 공중합체(예를 들어, 폴리(락타이드-카프로락톤)나 폴리(락트산-글리콜산))로 이루어질 수 있지만, 본 발명이 이에 한정되지 않는다.

[0028] 하나의 예시적인 실시형태에서, 나노 섬유의 코어를 구성하는 제 1 생체적합성 고분자는 폴리우레탄(polyurethane, PU)으로 이루어질 수 있다. 폴리우레탄은 방출성 약물에 대하여 안정성이 있으며, 약물전달시스템(drug delivery system, DDS)에 대한 용매에 대해서도 안정성이 있고, 약물 전달 스케폴드로도 활용될 수 있다. 또한, 나노 섬유의 셸을 구성하는 제 2 생체적합성 고분자는 생분해성 소재인 폴리락타이드, 폴리글리콜산 및 이들의 공중합체이고, 바람직하게는 폴리락타이드, 일례로 폴리(D,L-락타이드)(poly(D,L-lactide, PLLA)로 이루어질 수 있다.

[0029] 본 발명에 따라 코어-셸 구조를 가지는 나노 섬유를 제조하기 위한 동축 전기방사 공정에서, 생체적합성 고분자의 농도와 같은 샘플링 파라미터, 인가되는 전압이나 노즐과 집진기(collector) 사이의 거리, 생체적합성 고분자의 유속(flow rate), 즉 토출 속도와 같은 프로세싱 파라미터, 챔버 내의 상대습도와 같은 대기 파라미터들은 최종적으로 합성되는 코어-셸 나노 섬유의 형태 및 기능에 영향을 미칠 수 있다.

[0030] 하나의 예시적인 실시형태에서, 전원으로부터 생체적합성 고분자 용액의 표면장력보다 높은 전압이 인가될 수 있다. 이에 따라, 이중 노즐을 통하여 제 1 및 제 2 생체적합성 고분자 용액이 집진기 방향으로 방사되면서, 집진기의 일측에 결합된 스텐트 본체의 표면에 섬유 형태로 집적되면서 코팅층을 형성한다. 일례로, 전원에서는 대략 5 내지 100 kV의 전압, 바람직하게는 5 내지 30 kV의 전압이 인가될 수 있다. 인가되는 전압이 5 kV 미만이면, 생체적합성 고분자 용액이 섬유상 형태로 집적되기 어렵고, 인가되는 전압이 100 kV를 초과하면 전기적 안정성이 낮아지면서 코팅층이 균일하게 형성되지 않을 수 있다.

[0031] 또한, 본 발명의 예시적인 실시형태에 따르면, 생체적합성 고분자 용액이 토출되는 이중 노즐과 집진기 사이의 거리는 대략 2 내지 30 cm인 것이 바람직할 수 있다. 노즐과 집진기 사이의 거리가 2 cm 미만이면, 고분자 용액에 포함된 용매가 충분히 증발되지 않아 방사된 나노 섬유가 엉키면서 코팅층이 균일하게 형성되지 않을 수 있다. 노즐과 집진기 사이의 거리가 30 cm를 초과하면, 집진기의 표면으로 집적되는 나노 섬유의 양이 충분하지 못하여 균일한 코팅층을 형성하지 않을 수 있다.

[0032] 아울러, 예를 들어, 전기방사 공정을 수행할 때 대기는 대략 30 내지 45%의 상대습도 조건에서 수행되는 것이 바람직하다. 상대습도가 45%를 초과할 때, 유기 용매의 증발이 지연되면서 코어와 셸을 각각 구성하는 용액이 혼합될 우려가 있다. 나노 섬유의 코어와 셸을 구성하는 생체적합성 고분자의 농도를 조정하기 위한

방법으로서, 상대습도 조건을 조절하는 것 이외에도 코어를 구성하는 제 1 생체적합성 고분자와 셸을 구성하는 제 2 생체적합성 고분자가 예를 들어 제 1 생체적합성 고분자와, 제 2 생체적합성 고분자가 1:1.5 내지 1:5, 바람직하게는 1:2 내지 1:4의 중량 비율로 사용하여, 셸을 형성하는 고분자의 농도를 증가시키는 것이 바람직할 수 있다. 선택적으로, 생체적합성 고분자 용액이 주입되는 노즐과, 나노 섬유가 형성되는 집진 부위 사이의 거리를 증가시켜, 유기 용매의 증발 시간을 늘리는 것을 또한 고려해 볼 수 있다.

[0033] 일례로, 독시사이클린이 로딩되어 있으며, 나노 섬유의 코어를 형성하는 제 1 생체적합성 고분자 용액은 0.2 내지 0.4 ml/hour의 유속(토출 속도)으로 토출되며, 나노 섬유의 셸을 형성하는 제 2 생체적합성 고분자 용액은 0.5 내지 4.0 ml/hour의 유속, 바람직하게는 3.0 내지 4.0 ml/hour의 유속으로 토출될 수 있다.

[0034] 본 발명에 따라 전기방사법을 이용하여, 나노 섬유에 로딩된 독시사이클린 약물의 지속적인 용출 내지는 방출이 가능하다. 동축 전기방사법을 사용함으로써, 스텐트 본체의 표면에 형성된 나노 섬유로 이루어지는 코팅층은 비표면적이 높기 때문에 스텐트 본체의 표면에 균일한 두께로 코팅될 수 있다. 또한, 나노 섬유의 내부에 위치하는 코어에 독시사이클린이 로딩되어 있기 때문에, 본 발명에 따른 스텐트를 체내에 주입하였을 때, 나노 섬유 코팅층에서 독시사이클린이 조기에 과다 방출되지 않도록 방출 속도를 제어할 수 있다.

[0035] 즉, 본 발명의 예시적인 실시형태에 따라, 나노 섬유가 코어-셸 구조를 가질 수 있도록 동축 전기방사(coaxial electrospinning)를 진행하면, 독시사이클린 약물의 방출이 지연되거나 가속화되도록 조절할 수 있다. 특히, 독시사이클린을 나노 섬유의 코어에 로딩함으로써, 독시사이클린이 스텐트로부터 급속하게 방출(burst release)되는 것을 방지할 수 있는 이점을 갖는다. 이에 따라, 체내에서 독시사이클린의 지속적인 방출이 가능하고, 독시사이클린의 치료 및/또는 예방 효과가 장시간 유지될 수 있다. 이때, 독시사이클린은 코어를 구성하는 제 1 생체적합성 고분자에 대하여 5 내지 20 중량%의 비율로 로딩될 수 있다. 독시사이클린이 5 내지 20 중량%의 비율로 코어에 로딩되면, 독시사이클린의 방출에 따른 의학적 효과를 효율적으로 구현할 수 있다.

[0036] 전술한 바와 같이, 스텐트는 혈관이나 도관에서 혈액이나 체액의 협착을 제거하는데 사용되는데, 스텐트에 의하여 혈관이나 도관에서 손상이 유발되고, 내막염(subintimal) 조직이 과도하게 성장하여 종종 섬유성 재협착(fibrotic restenosis)이 유발되기도 한다. 본 발명에 따라 독시사이클린이 로딩된(loaded) 나노 섬유를 스텐트 표면에 코팅하여 조직의 섬유증(fibrosis)을 예방, 방지할 수 있다. 섬유증이란, 반응성, 양성(benign) 또는 병리적 상태일 수 있는 상해나 손상에 대한 수복 반응(reparative response)으로서 섬유성 연결 조직이 과다 형성된 것으로, 통상적인 치유의 부분으로 일어나는 연결 조직의 침착이나, 병리적 과정으로서 일어나는 과량의 조직 침착으로도 언급될 수 있다.

[0037] 섬유증은 세포외 기질(extracellular matrix, ECM) 단백질의 병리적 축적으로 정의되는 조직의 상처 및 비대로서 일어나는데, 글리코사미노글리칸(glycosaminoglycan)과 콜라겐을 함유하는, 연결 조직 아래에서의 섬유모세포(fibroblast)와 관련이 있다. 이러한 섬유증은 다양한 신체 조직에서 일어나는데, 예를 들어 기관 섬유증(trachea fibrosis), 간 섬유증(liver fibrosis), 심장 섬유증(heart fibrosis) 등을 포함한다. 특히, 기관은 호흡에 사용되는 가장 중요한 구조물 중의 하나이며, 대기중의 자극제에 노출되었을 때 기관은 방어라인으로 관여한다. 흉강 내부의 내층, 즉 흉막(pleura)는 만성 염증에 기인하여 비대해질 수 있으며 이에 따라 섬유증이 초래된다.

[0038] 본 발명에 따라 나노 섬유에 로딩되는 독시사이클린(doxycycline)은 광범위 항생제인 테트라사이클린 유사체로서, 예를 들어 폐 조직에서 기질 금속단백질분해효소(matrix metalloprotease, MMP)의 잠재적인 억제제이다. 콜라겐 합성을 위하여 악성 또는 양성 조직에서 발현되는 MMP는 아연-의존적인 엔도펩티다아제(endopeptidase)로서, 세포외 기질에서 소재를 선택적으로 분해하는데 중요한 역할을 수행한다. 또한, MMP는 정상 세포의 재형성이나, 조직 및 전이 상태에서의 혈관생성(angiogenesis)에 관여하며, 양성 또는 악성 종양(neoplasm)에서 과다 발현된다. 독시사이클린은 섬유증 형성과 연관된 재협착과 관련한 MMP의 활성화, 특히 MMP2 및 MMP9의 활성을 억제할 수 있다. 또한, 독시사이클린은 뉴트로필(neutrophil)의 이동을 억제하는 항-면역 조절 특성을 가지고 있으며, 장기간 치료에서도 내성을 갖지 않는 항-세포사멸(antiapoptotic) 활성을 가지고 있다. 아울러, 독시사이클린은 염증, 부종(edema), 섬유혈관 형성을 억제하는 것으로 알려져 있다.

[0039] 이에 따라 본 발명의 예시적인 실시예에서는, 특히 기관 조직의 염증 등을 억제하거나 치료하기 위한 조직 삽입형 스텐트를 장기간 보존하는데 활용될 수 있도록 독시사이클린이 나노 섬유에 로딩되도록 하였다. 이에 따라, 양성 폐색(benign obstruction) 또는 협착 등이 야기된 조직, 예를 들어 기관 조직으로 본 발명에 따라 제조된 독시사이클린 용출용 스텐트를 삽입하면, 염증 반응 및 이러한 염증 반응이 기인하는 섬유증을 예방, 치료할 수 있다.

[0040] 이하, 예시적인 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하지만, 본 발명이 하기 실시예에 기재된 기술사상으로 한정되는 것은 아니다.

[0041] [물질]

[0042] 독시사이클린은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, 테트라하이드로퓨란과 N,N-디메틸포름아마이드(Duksan Lab, Korea)와 폴리우레탄(Pellethane 2363-80A, Lubrizol)은 (주)태웅 메디칼로부터 공급받았다. 메탄올, 아세트산 암모늄, 아세토니트릴(J.T. Baker, USA)은 모두 HPLC-등급의 것을 구입하였다. 증류수는 Milli Q(Millipore Co., Miliford, MA)에서 구입하였다. 다른 화합물은 분석용 시약 등급의 것으로 더 이상 정제하지 않고 사용하였다.

[0043] 실시예 1: 동축 전기방사에 의하여 스텐트에 나노 섬유 코팅

[0044] 코어-셸 구조의 나노 섬유를 제조하기 위하여, N,N-디메틸포름아마이드(N,N-dimethyl formadiem, DMF)와 테트라하이드로퓨란(tetrahydrofuran, THF)가 1:2의 중량비로 혼합되어 있는 유기용매에 독시사이클린을 첨가하였다. 독시사이클린이 완전히 용해될 때까지 블렌드를 볼텍스(vortex)하였다. 상기 용액에 폴리우레탄 고분자 30 mg을 첨가하고, 용액이 맑아질 때까지 볼텍스하였다. 이 혼합 용액을 코어 형성을 위해 사용하였으며, 고분자 용액은 10%(w/w) 폴리우레탄(PU)으로 제조하였다. 셸-층을 형성하기 위하여, 코어-층과 유사한 비율로 혼합된 유기용매를 사용하여 폴리(D,L-락타이드) (PDLLA) 30 mg을 별도로 제조하였다. 셸-층을 형성하는 고분자의 농도는 3.3%(w/w)이었다. 독시사이클린은 코어 고분자 함량의 10%(w/w)로 고정하였다. 고분자 용액에 첨가된 독시사이클린은 상온으로 유지하였으며, 코어 나노 섬유를 제조하는데 사용되었다.

[0045] 코어-셸 나노 섬유를 제조하기 위하여, 각각의 코어 블렌드 용액 및 셸용액을 각각 내측 유속(flow rate) 0.3 mL/hour, 외측 유속 0.9 mL/hour에서 이중-금속 노즐을 통하여 이들 용액을 주입하였다. 나노 섬유를 제조하기 위하여, 코어에 대해서는 17-gauge 금속 노즐을, 셸에 대해서는 23-gauge 금속 니들을 사용하였다(도 1 참조). 1000 rpm에서 회전 원통 집진기 상에 고정되어 있는, 집진된 금속 스텐트 또는 알루미늄 포일 상에 코어로 형성된 전기방사 나노 섬유가 바로 집진되었다(도 8 참조). 대기에 의한 영향을 분석하기 위하여, 나노 섬유를 다른 습도 조건(상대습도 각각 40 내지 45%와, 30 내지 35%)에서 제조하였다. 모든 나노 섬유를 충분히 건조하고, 추후 분석을 위하여 밀폐 용기 내에 밀폐 보관하였다. 제조된 나노 섬유의 조성을 표 1에 나타낸다.

[0046] 실시예 2: 동축 전기방사에 의하여 스텐트에 나노 섬유 코팅

[0047] 코어로 사용된 폴리우레탄과, 셸로 사용된 폴리락타이드의 중량비를 1:4로 조정하고, 셸로 사용된 PDLLA의 유속을 증가시킨 것을 제외하고 실시예 1의 절차를 반복하였다. 제조된 나노 섬유의 조성을 표 1에 나타낸다.

[0048] 비교예 1: 단층 나노 섬유

[0049] 폴리우레탄 용액에 독시사이클린을 로딩하여 폴리우레탄의 단층 나노 섬유를 제조한 것을 제외하고 실시예 1의 절차를 반복하였다. 구체적으로, 단층 나노 섬유를 제조하기 위하여, 폴리우레탄 용액에 독시사이클린이 로딩된 PU 블렌드 용액을 0.3 mL/min의 유속으로 하여 23-gauge 니들을 통하여 주입하였다. 테일러 콘이 형성될 수 있도록 다른 조건에서 전압을 최적하였으며, 고분자 용액을 분무(spray)하였다. 1000 rpm으로 고정된 회전 원통 집진기 위에 배치된 알루미늄 포일 또는 금속 스텐트에 단층 나노 섬유가 집진되었다. 제조된 나노 섬유의 조성을 표 1에 나타낸다.

[0050] 비교예 2: 단층 나노 섬유 제조

[0051] 폴리락타이드 용액을 사용하여 폴리락타이드의 단층 나노 섬유를 제조한 것을 제외하고 실시예 1의 절차를 반복하였다. 제조된 나노 섬유의 조성을 표 1에 나타낸다.

표 1

[0052] 전기방사 나노 섬유의 PU-PDLLA의 조성

샘플	코어(PU)		셸(PDLLA)		중량비 PU:PDLLA	독시사이클린 (mg)
	고분자 함량 (mg)	유속 (mL/h)	고분자 함량 (mg)	유속 (mL/h)		
실시예 1	30	0.3	30	0.9	1:1	3
실시예 2	30	0.3	120	3.6	1:4	3
비교예 1	30	0.3	-	-	-	3

비교예 2	-	-	30	0.9	-	-
-------	---	---	----	-----	---	---

[0053] 실시예 3: 나노 섬유 HPLC 분석

[0054] 독시사이클린의 양을 정량화할 수 있도록, 표준 샘플들을 Water Alliance[®]을 사용하는 HPLC 시스템으로 분석하였다. 컬럼으로서, 5 μ m Fortis C18(150 x 4.6 mm x 5 μ m)을 사용하였고, 이동상(mobile phase)은 메탄올과 20 mM 인산완충용액을 60:40(v/v)로 혼합하여 pH 6.0으로 조정된 것을 사용하였다. 이동상을 1 ml/min의 유속으로 고정하고, 주입량을 50 μ l로 고정하였다. 컬럼 온도를 25 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C로 유지하였으며, 크로마토그램은 262 nm에서 UV 검출기를 사용하여 관찰하였다. 독시사이클린을 정량화하기 위한 HPLC 시스템의 분석 조건을 표 2에 나타낸다. 표준 샘플의 독시사이클린은 샘플 제조의 다른 시기에서 측정하였으며, 모든 표준 샘플과 시험 샘플은 분석 전에 잘 보관하였다.

표 2

[0055] 독시사이클린 정량화를 위한 HPLC 분석 조건

독시사이클린 정량을 위한 HPLC 분석 조건	
이동상(mobile phase)	메탄올: 완충액(6:4); 완충액: 20 mM KH ₂ PO ₄ (pH 6.0으로 조정)
희석액(diluent)	이동상
표준 샘플 농도	0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 25.0 및 50 μ g/ml
크로마토그래프 조건	
HPLC 시스템	Alliance 2690 system
컬럼(column)	Fortis C ₁₈ (150 x 4.6) mm x 5 μ m
유속	1.0 ml/min
주입량	50 μ l
컬럼 온도	상온(RT)
Run time	10 min
파장(UV)	262 nm

[0056] 실험예 1: 나노 섬유의 형태학적 특징

[0057] (1) 형광 현미경 분석

[0058] 실시예 1에서 제조된 코어-셸 나노 섬유와, 비교예 1, 2에서 제조된 단층 구조의 나노 섬유를 확인하기 위하여 형광 현미경으로 분석하였다. PU를 포함하는 코어에 Nile red를 첨가하였고, PDLLA를 포함하는 셸에 DAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole)을 첨가하였다.

[0059] 본 실시예에 따른 형광 현미경 분석 결과를 도 3에 나타낸다. 코어-셸 구조의 나노 섬유는 단층 구조를 가지는 나노 섬유와 확실히 구분되는 형태를 가지는 것을 알 수 있다. 특히, 단층 구조와 달리, 코어-셸 구조의 나노 섬유는 내층과 외층이 확연히 구분되었다.

[0060] (2) 주사전자현미경(SEM) 분석

[0061] 실시예 1, 2와 비교예 1에서 각각 제조된 나노 섬유의 형태학적 구조를 SEM을 이용하여 분석하였다. 각각 제조된 스텐트를 24시간 동안 건조기에서 완전히 건조시켰다. 나노 섬유 스캐폴드 스텐트에 백금을 코팅하고, 5 kV의 가속 전압으로 SEM을 사용하여 표면 형태를 관찰하였다. PU 단층 구조의 나노 섬유와, PU 코어-PDLLA 셸 구조의 나노 섬유에 대한 SEM 사진 분석 결과를 도 4와 도 5에 나타낸다. 도 4 및 도 5의 SEM 영상에 나타난 바와 같이, 단층 구조의 나노 섬유의 두께는 코어-셸 구조의 나노 섬유에 비하여 얇았다. 단층 나노 섬유의 두께는 약 1.04 μ m이었으며, 코어-셸 구조의 나노 섬유의 두께는 약 2.80 μ m로서(도 4 참조). PU로 제조된 단층 나노 섬유의 크기는 코어-셸 구조의 나노 섬유에 비하여 3배 가량 작았다.

[0062] 한편, 상대적으로 낮은 30~35% 상대습도 조건에서 제조된 나노 섬유는 상대적으로 높은 40~45% 상대습도 조건에서 제조된 나노 섬유에 비하여 얇게 형성되었다. 또한, 코어를 구성하는 PU와 셸을 구성하는 PDLLA를 1:1의 중량 비율로 사용하여 제조된 나노 섬유는 매끄러운 표면을 가지고 있으며, 병합된(merged) 섬유는 관찰되지 않았다. 반면, 코어를 구성하는 PU와 셸을 구성하는 PDLLA를 1:4의 중량 비율로 사용하여 제조된 나노 섬유의 외형은 두꺼워졌다(도 5 참조).

[0063] (3) 투과전자현미경(TEM) 분석

[0064] 단층 구조 및 코어-셸 구조의 형태를 확인하기 위하여, 실시예 1과 비교예 1에서 각각 제조된 나노 섬유를 TEM(Philips CM200, USA)를 사용하여, 고전압으로 가속화된 전자빔에 의해 형성된 회절 패턴으로 분석하였다. 단층 전기방사 섬유 샘플과, 코어-셸 전기방사 섬유 샘플을 각각 카본-코팅된 사각(square-grid) 멤브레인에 직접 집진하였다. TEM 분석을 위하여 각각의 샘플을 상온에서 24시간 동안 건조시켰다. TEM 영상은 100 kV 전압에서 관찰하였으며, gatan 영상 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. 본 실시예에 따른 TEM 분석 결과를 도 6에 나타낸다. PU로 이루어진 단층 나노 섬유는 매끄러운 표면을 가지고 있으며, 층 사이에 개재된 다른 층은 관찰되지 않았다. 하지만, 코어-셸 구조를 가지는 나노 섬유에서는 2개로 구분되는 층이 형성된 것을 알 수 있다. 내층과 외층을 각각 선명하게 형성되었으며, 각 층의 두께와 크기를 구분할 수 있었으며, 코어를 구성하는 내층과 셸을 구성하는 외층의 직경은 각각 0.11 μm 와, 0.25 μm 로 분석되었다.

[0065] 실험예 2: 나노 섬유의 약물 방출 프로파일 분석

[0066] 실시예 1, 2와 비교예 1에서 각각 제조된 나노 섬유에 대한 생체의(*in vitro*) diranf 방출을 종래의 방법에 따라 수행하였다. 제조된 나노 섬유를 정량하고, pH 7.4로 조정되어 shaker 내부에 유지된 버퍼용액을 포함하는 원뿔 튜브 내로 삽입하였다. 온도를 $37 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 설정하여, 생체 조건과 동일하게 설정하고, shaker를 80 rpm으로 교반하였다. 방출 배지(release media)를 10 ml 버퍼 용액으로 고정하였다. 샘플을 소정의 시간 간격(1, 3, 7, 24 시간)을 두고 용액에서 빼내었다. 전체 방출 배지를 각각의 샘플링 시간에서 제거하고, 실험 조건의 균등한 새로운 배지로 교체하였다. 분석을 수행하기 전에 각각의 샘플을 4°C 에서 보관하였다.

[0067] THF로 희석하고 1시간 동안 초음파 처리한 뒤, 30분 동안 초음파 처리된 용액에 메탄올 3 ml를 첨가하여, 나노 섬유 내에 잔류하는 독시사이클린의 양을 정량화하였다. 샘플을 4000 rpm에서 10분 동안 원심분리 하였다. 상청액(supernatant solution)을 메탄올로 다시 희석하고, HPLC 분석을 위해 주입하였다. 본 실시예에 따른 분석 결과를 도 7에 나타낸다. 1시간이 경과한 시점의 방출의 초기 단계에서 독시사이클린의 급격한 방출(burst release)이 일어난 것을 알 수 있다. 낮은 상대습도인 30~35%의 상대습도 조건에서 제조된 PU 단층 나노 섬유에서 독시사이클린 방출율은 86.62%이었다. 한편, PU와 PDLLA를 1:1의 중량 비율로 사용하여 제조된 코어-셸 나노 섬유는 동일한 상대습도 조건에서 독시사이클린 방출율은 84.75%이었다. 반면, PU와 PDLLA를 1:4의 중량 비율로 사용하고 40~45%의 상대적으로 높은 상대습도 조건에서 제조된 코어-셸 나노 섬유는 1시간이 경과한 시점에서 독시사이클린 방출율은 65.08%이었고, 24시간이 경과한 시점에서 독시사이클린 방출율은 69.15%이었다. 또한, PU와 PDLLA를 1:4의 중량 비율로 사용하고 30~35%의 상대적으로 낮은 상대습도 조건에서 제조된 코어-셸 나노 섬유는 24시간이 경과한 시점에서 독시사이클린 방출율은 42.80%로 방출 속도가 저하되었다.

[0068] 실험예 3: 조직학적 분석을 통한 생체 내(*in vivo*) 연구

[0069] (1) 동물 모델

[0070] 본 연구 프로토콜은 인하대학교 병원의 동물 윤리 위원회의 승인을 받아 진행하였으며, 동물에 대한 실험은 기관의 가이드라인을 준수하면서 수행되었다. 약 2,500~3,000 g의 체중을 가지는 것으로 측정된 9마리의 뉴질랜드 토끼를 각 그룹당 3마리의 토끼로 이루어진 3개의 그룹으로 구분하였다. 마취를 유도하기 위하여, 케타민(ketamine)과 자일라진(xylazine)의 혼합물(각각 35 및 5 mg/kg)을 근육내 주사로 주입하였다. 토끼 경부의 털을 면도하고, 멸균 수술용 해부칼을 사용하여 기관의 외곽을 축진한 뒤, 수직 절개하여, 피부와 근육을 절개하여 기관(trachea)을 노출시켰다. 기관을 노출시킨 뒤, 실시예 및 비교예에서 각각 제조된 스텐트를 기관 내부로 삽입하였다. 즉시 봉합을 수행하고, 동물 모델이 정상화될 때까지 모니터링하였다. 고분자 코팅된 스텐트와, 독시사이클린-용출을 위한 코어-셸 나노 섬유로 코팅된 스텐트가 각각 대조군과 처리군으로 삽입되었다. 정상군은 스텐트로 처리하지 않은 그룹으로 명시되었다. 연구 프로토콜에 따라 동물 모델을 4주 동안 모니터링하였다.

[0071] (2) 내시경 평가

[0072] 4주 동안 처치 후에, 동물 모델로 사용된 토끼를 근육내 주사로 마취시키고, 내시경 평가를 위하여 수술대 위에 눕혔다. 실험 전체에 토끼에게 자발적인 호흡이 유지되도록 하였다. 스텐트를 제거한 뒤, 구강을 통하여 후두 내시경(STORZ, Tuttlingen, Germany)을 삽입하고, 후두를 시각화할 수 있는 최고의 시야를 제공하는 위치에 배치하였다. 기관의 손상 부위와 치료 부위를 평가하고 영상화하였다. 이어서 기관지경을 다른 방향에서 기관의 모든 부위로 회전시켰다. 처치된 모든 동물에 대하여 동일한 절차를 반복하고 연구하였다. 기관 및 점막 과립(mucosal granule)을 평가할 수 있도록, 내시경 기록 시스템으로 기록하였다. 과립형성 조직은 ImageJ 소프트웨어(National Institute of Health, Bethesda, MD)를 사용하여 스캐닝된 이미지를 분석하여 평가하였다. 내시

경 평가 결과를 도 8에 나타낸다. 수술 후의 내시경 평가에서 정상군에서는 아무런 염증이 관찰되지 않았다. 독시사이클린을 로딩하지 않고, PU-PDLLA만으로 코팅한 스텐트로 처리한 대조군에서는 염증이 발생하였고, 독시사이클린이 용출되도록 PU-PDLLA의 코어-셸 나노 섬유로 코팅한 스텐트로 처리한 군에서는 염증 세포의 흔적을 보여주었으나, 염증에서 완전히 회복된 상태를 보여주고 있다.

[0073] (3) 염색을 통한 형태학적 분석

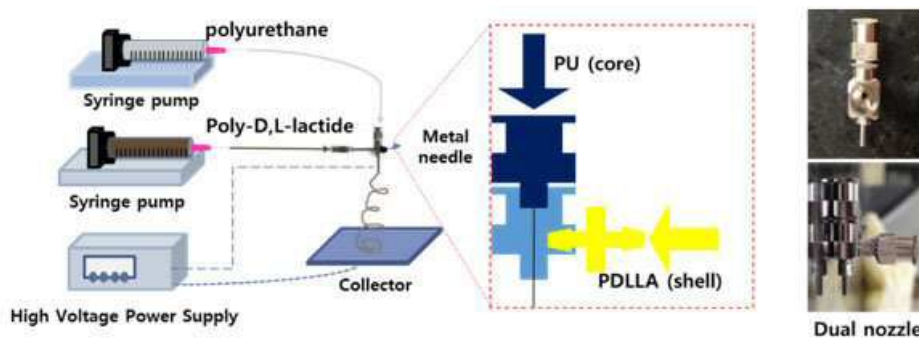
[0074] 내시경 평가 후에, 동물 윤리에 따라 출혈시켜 동물들을 안락사 시키고, 봉합을 주의 깊게 제거하였다. 스텐트가 삽입된 부분의 3개의 레벨(근위부, 중위부, 원위부)에서 기관을 황으로 절개하고, 바로 채취한 뒤에 표본을 4% 파라포름알데하이드에 넣었다. 이어서 표준 병리 프로토콜에 따라 샘플을 파라핀으로 고정하고, 각각의 샘플을 4 μ m 조각으로 황으로 절단한 뒤에, H&E(hematoxylin and eosin)과 MT(Masson's trichrome)으로 염색하였다. 절개된 기관을 맵검 조건에서 광학현미경(Nikon, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다. 평균 값을 얻기 위하여 각각의 조직 샘플에 대한 각각의 단편에 대하여 3회의 측정을 수행하였다. 광학현미경 영상에서 상피 세포의 개수를 카운팅하여, 상피화(epithelialization)를 측정하였다. 염증 세포(즉, 플라즈마 세포를 포함하는, 뉴트로필, 모노사이트, 림포사이트 및 백혈구)의 개수를 카운팅하여, 염증 반응을 측정하였다. 각각의 조직 슬라이드에 대하여 4개의 랜덤 부위로부터, 병리학적으로 상대적인 섬유증 영역과, MT 염색에 의한 섬유증 영역을 측정하였다. 본 실시예에 따라 기관 점막 상피에서의 변화를 보여주는 염색 분석 결과를 도 9에 나타낸다. 정상군에서는 아무런 변화가 없었으며, 독시사이클린-용출용 스텐트로 처리한 군에서는 약간의 염증 상태가 관찰되었으며, 염증 세포의 개수는 단순히 고분자로만 코팅한 스텐트로 처리한 군에 비하여 적었다. 특히, 독시사이클린을 사용하지 않고 고분자로만 코팅한 스텐트로 처리한 군에서는 H&E 염색과 MT 염색에서 모두 손상된 세포를 보여주었다.

[0075] 내시경 분석 및 염색 분석을 통하여, 독시사이클린이 용출되도록 설계된 나노 섬유가 코팅된 스텐트를 조직에 삽입하면, 스텐트의 조직 삽입에 의한 기계적 손상에 기인하는 섬유성 조직의 형성을 효율적으로 감소시킬 수 있다는 것을 확인하였다.

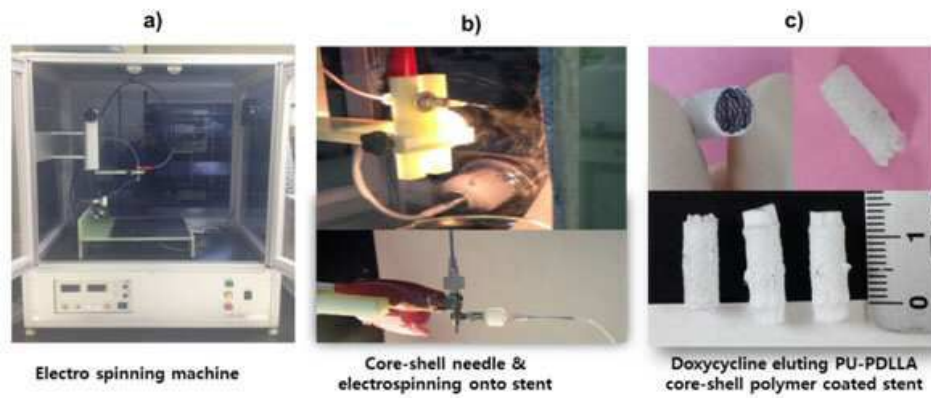
[0076] 상기에서는 본 발명의 예시적인 실시형태 및 실시예에 기초하여 본 발명을 설명하였으나, 본 발명이 상기 실시형태 및 실시예에 기재된 기술사상으로 한정되지 않는다. 오히려 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 전술한 실시형태 및 실시예를 토대로 다양한 변형과 변경을 용이하게 추고할 수 있다. 하지만, 이러한 변형과 변경은 모두 본 발명의 권리범위에 속한다는 사실은 첨부하는 청구범위에서 분명하다.

도면

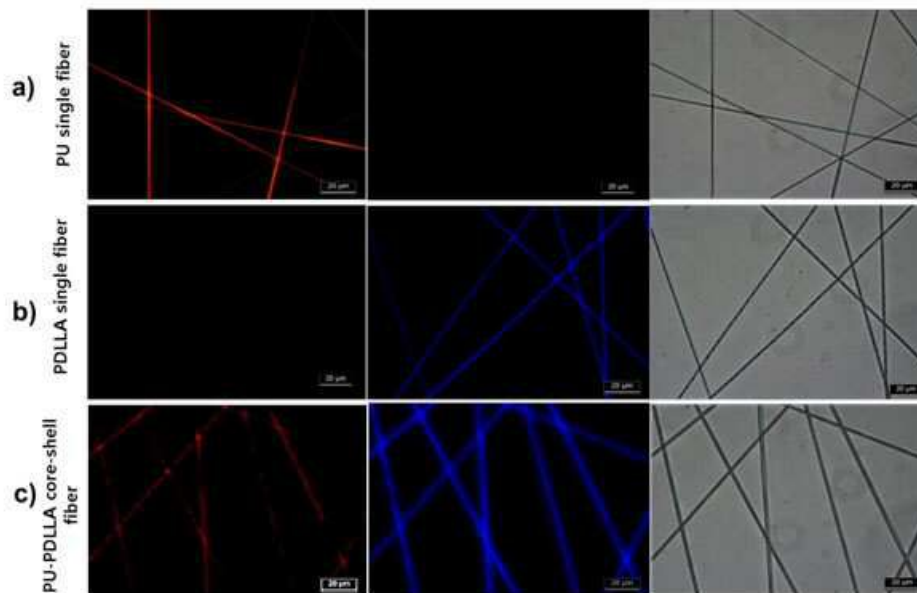
도면1



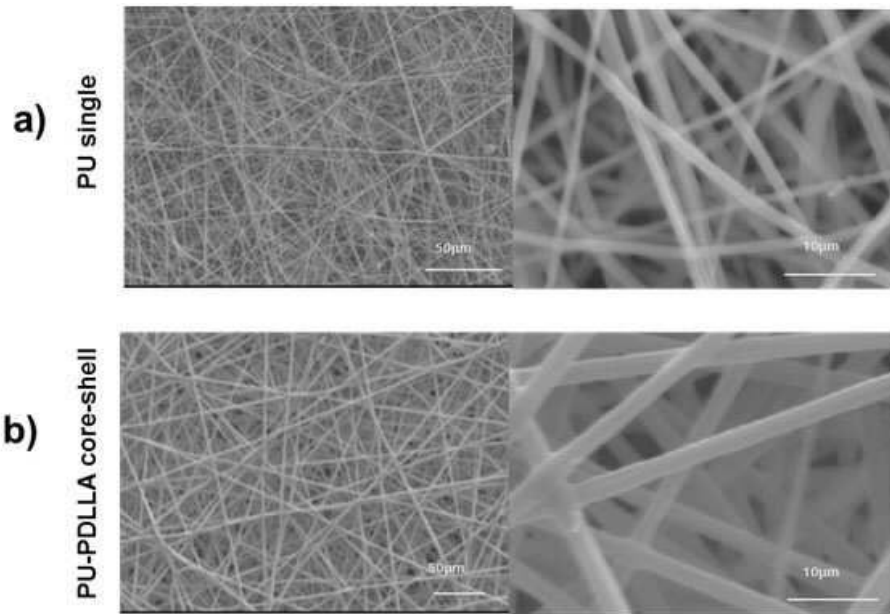
도면2



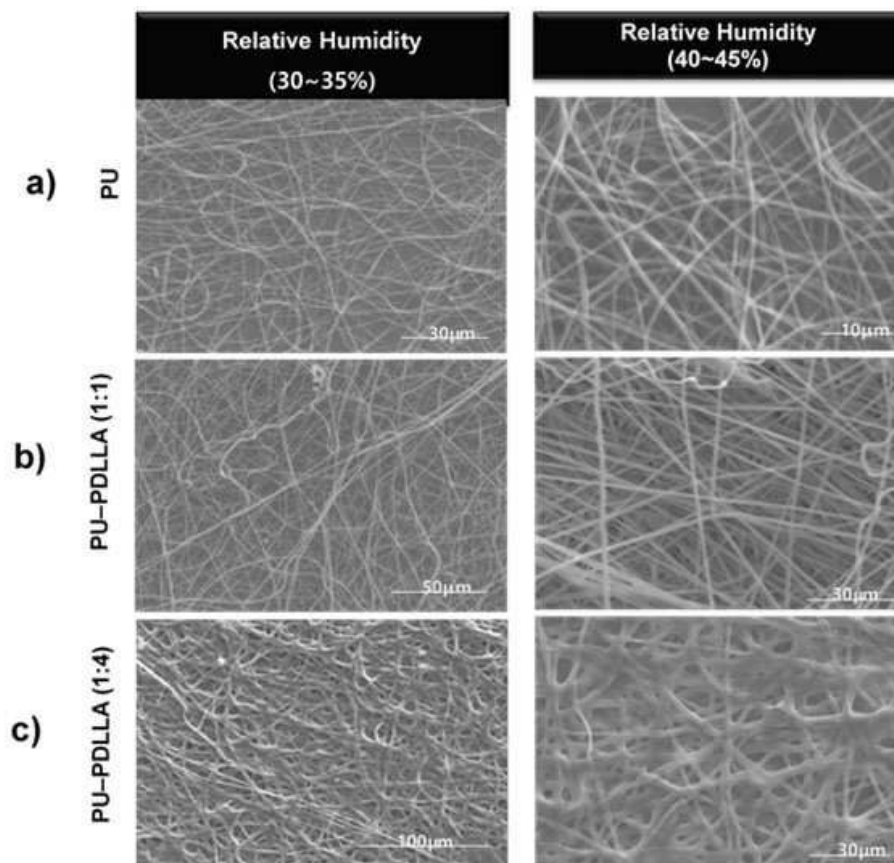
도면3



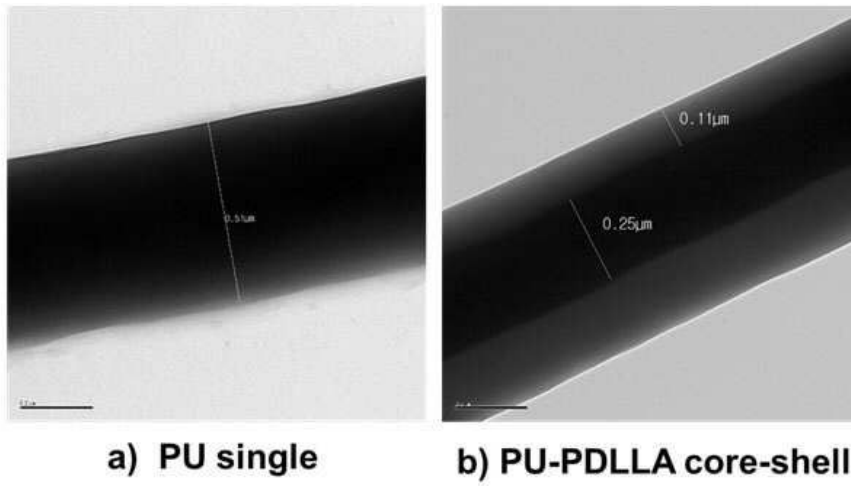
도면4



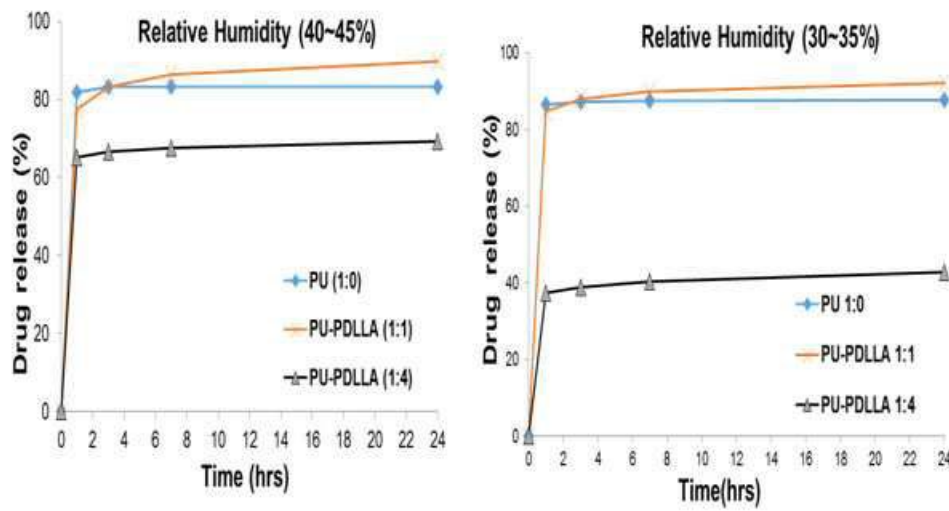
도면5



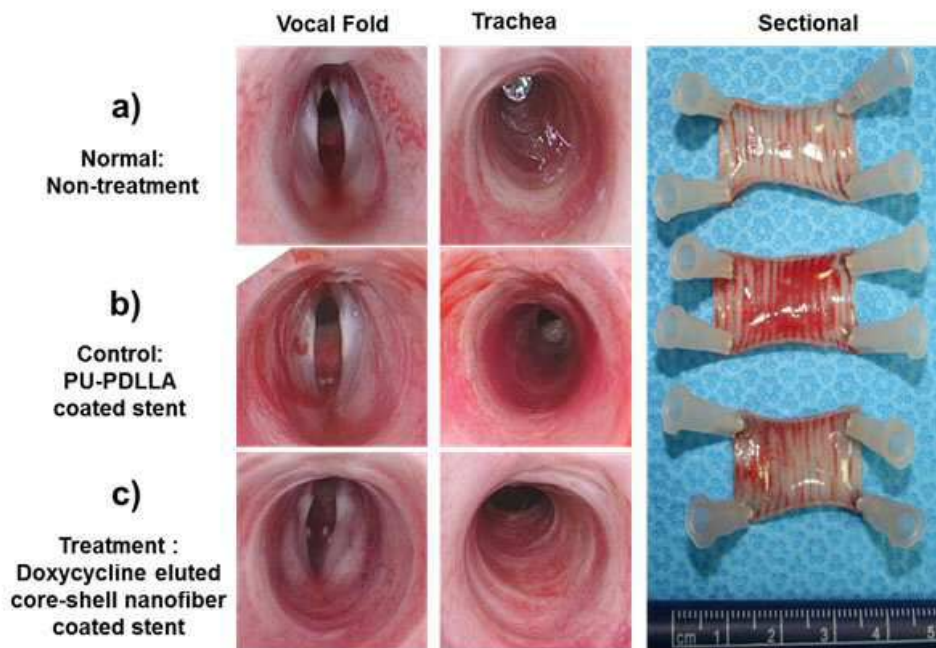
도면6



도면7



도면8



도면9

