

## 광역학적 암치료와 형광 진단

## Photodynamic therapy and Fluorescence Diagnostics

임현수

충남대학교 의과대학 의공학교실

hslim@cnu.ac.kr

## I. 서 론

첨단과학의 발전과 생활환경의 개선으로 인류의 수명이 점차 증가하였으나 아직도 많은 질병과 재앙은 인류를 완전한 행복으로 이끌지는 못하고 있다. 여러 가지 극복되지 못한 질병들 중에는 암이 대표적인 질환일 것이다. 의학의 발전은 많은 악성종양의 극복을 가져왔으나 그 과정이 매우 힘들고 완치의 개념에는 아직 도달하지 못하고 있는 것이 사실이다. 암 치료의 기존 방법들에는 수술요법, 화학요법, 방사선치료, 면역요법 등이 있으나 그 치료자체에 의한 합병증 및 후유증으로 치료과정에 사망하거나 치명적인 장애를 남기는 경우가 허다하며 치료 후에도 수일에서 수개월 또는 수년 후에도 심한 정신장애, 신경장애가 있으며 심지어 재발 시에는 별다른 치료법이 없다는 것이 현실이다. 이에 보다 쉽고 확실한 치료효과를 개발하기 위한 노력의 일환으로 광역학적 치료라는 새로운 개념의 치료가 등장하게 되었다<sup>(1,2)</sup>. 광을 이용한 치료법은 다양한 종류의 암에 유효한 치료법으로 주로 500nm에서 700nm대역의 파장 중 선택적인 파장대역에서 반응하는 광감작제와의 광화학적 반응에 의해 정상조직에 피해를 주지 않고 암세포만을 괴사시켜 치료효과를 가지게 된다<sup>(3,4)</sup>. 이 치료법은 기존의 치료방법이 갖는 부작용이 없고, 기존의 방법으로 치료할 수 없는 부분을 치료할 수 있고, 국소적으로 종양의 크기를 조절하여 예후를 개선하여줄 수 있고 악화하여 가는 질병을 최소화하여 삶의 질을 향상시킬 수 있는 장점이 있어 선호되고 있다.

광의 암치료에 있어 이에 필요한 광원장치로 여러 종류의 레이저가 이용되어 왔다. 초기에 암치료에 사용한 광원으로는 Kodak beam projector에 #2418 red filter를 이용하였으나, 피부암 이외에 적용하기 어려운 단점이 있어서 인체에 삽입할 수 있는 광섬유를 사용하는 새로운 광원으로 레이저가 부각되었다. 이후로 Dye 레이저가 사용되었으며, 주로 Argon pumped Dye laser와 ND:YAG pumped Dye laser가 사용되었다. 높은 출력과 광섬유를 통한 광원의 전달 등 많은 장점을 가지는 반면에 높은 가격, 큰 부피의 시스템을 요구하기 때문에 이동할 수 없는 점, 여기원으로 사용되는 레이저의 냉각문제, 파장과 출력세기의 안정성 및 유지보수의 문제점이 지적되었다. 때문에 새로운 광원이 요구되었는데, 반도체 기술의 발달로 인해 다이오드 레이저에 그 초점이 모아졌다. 다이오드 레이저를 광원으로 사용할 경우 갖는 장점은 여러 가지가 있다. 광섬유를 통한 광원의 전달이라는 장점 이외에 장비의 크기가 작아서 이동이 가능하며, 전기에너지를 바로 광에너지로 변환시키기 때문에 시스템의 구조가 간단해지며, 공냉식의 냉각구조로도 충분한 냉각이 이루어진다. 또한 복잡한 광학구조가 없기 때문에 유지보수가 쉬워졌다.

본 연구는 광역학적 치료를 위한 기존의 레이저 시스템이 가지고 있는 단점을 다이오드 레이저를 통

본 연구는 보건복지부 선도기술·의료공학기술개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임.(HMP-98-G-025)

통신저자 : 임현수, (301-721) 대전광역시 중구 문화동 충남대학교 의과대학 의공학교실

해 극복하고, 광역학적 치료(Photodynamic therapy)의 실용화로 인류의 질병을 극복하고자 함에 있다. 이의 실현을 위해서는 일차적으로 동물실험을 통한 치료 효과의 검증, 치료 과정중의 안전성의 확보 및 안정성의 보장이 입증되어야 한다. 본 논문에서는 광역학적 치료의 기본인 광과 광감작제의 상관관계에 의한 악성종양에서의 효과를 밝혀 치료의 기본으로 삼고자 한다. 이는 최종적으로 인체에 대한 직접적인 반응의 검증을 위한 기초자료가 될 것이다.

## II. 실험 및 방법

### 1. 시스템 제작

PDT를 위한 레이저 시스템은 안정된 출력과 파장을 가져야 하며, 필요로 하는 출력의 세기를 원하는 위치에 정해진 시간동안 방사할 수 있어야 한다. 이러한 요구를 충족하기 위해서는 출력의 세기, 방사모드, 치료시간 등을 제어할 수 있어야 한다. 본 연구에서는 그림 1.과 같이 시스템을 구성하여 다양한 출력 모드와 안정적인 출력을 구현했다. 키 입력부(Key input)에서는 사용자가 원하는 출력의 세기, 방사모드, 치료시간 등을 입력할 수 있으며, 디스플레이(LCD Display)에서는 키를 누를 때마다의 상황과 지시사항을 출력한다. 중앙처리장치(Main CPU)에서 모든 시퀀스를 제어하고, 냉각장치(Cooling Controller, Fan, Heat Sink)로 공진기의 안정된 출력을 유지한다. 반도체 레이저 공진기(Laser Resonator)에서 660nm의 레이저가 발생하게 되며, 레이저 전원장치(Laser Power Supply, Current Detector, Laser Power Controller)는 스위치 모드 전원 장치(SMPS)로서 공진기의 전류를 제어하여 설정된 출력의 세기와 방사모드를 실현하였다. 광학장치(Optical Assemble, Accessary)는 최종 출력된 레이저빔을 인체의 조직까지 전달하는 역할을 하게 된다.

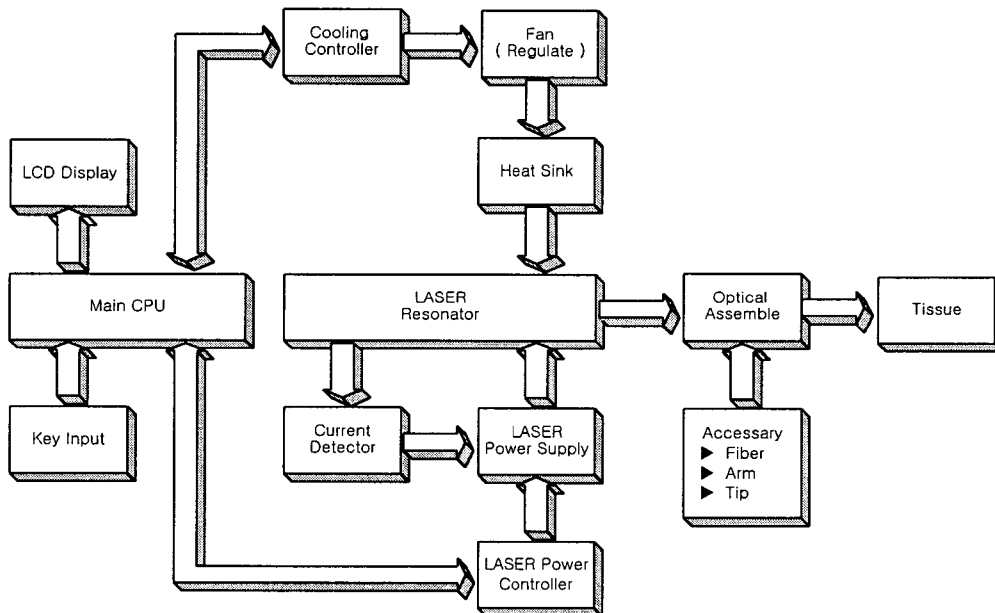


Fig. 1. System block diagram

그림 2.는 공진기에 흐르는 전류와 레이저 출력을 보여주고 있다. 최저 출력의 발진은 약 3V 의 신

호를 주었을 때 발생하였으며, 10mW의 출력 세기를 가지고 있다. 이 때 전류의 세기는 500mA 정도였다. 또한 최대 출력은 9V의 신호를 주었을 때 발생하였으며, 300mW의 출력세기를 가지고, 900mA 정도의 전류가 흘렀다.

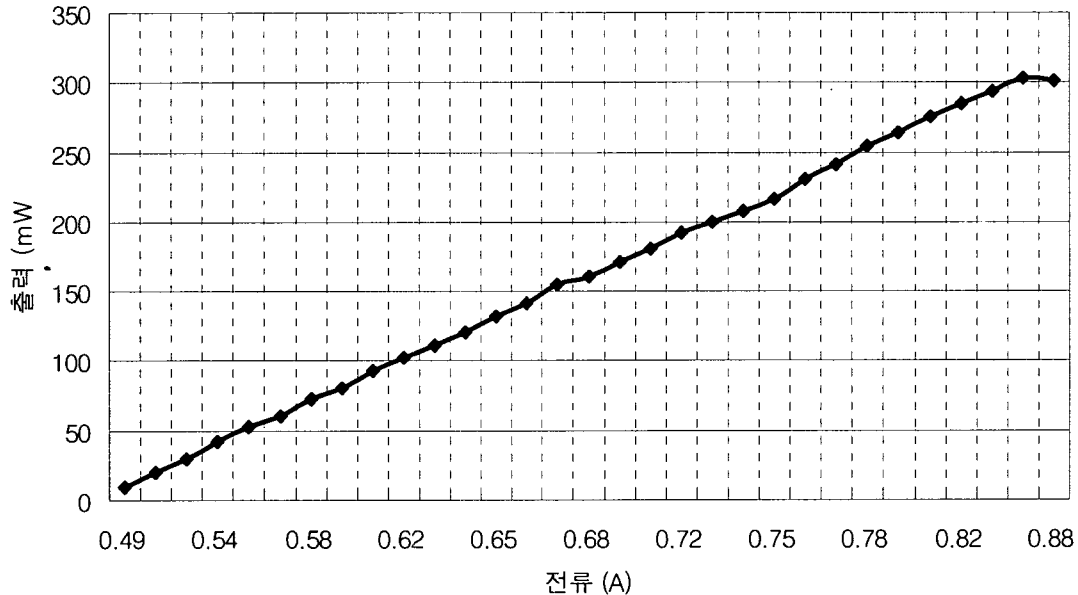


Fig. 2. The laser power vs. current

## 2. 동물실험

### 가. 실험재료

광감작제는 Photofrin-R(QLT PhotoTherapeutics Inc, Vancouver, British Columbia)을 사용하였으며, 실험용 동물은 누드 마우스(SPF/VAF mouse (BALB/cAnNCrj-nu/nu) from Charls River)를 이용하였다. Cell Line으로는 HepG2(ATCC HB-8065), HeLa cell(ATCC CRL-7396)을 누드 마우스에 배양하였다.

### 나. 실험방법

정확한 실험을 위해서는 Nude mouse가 감염되지 않도록 하는 것이 중요하다. 무균사육실의 관리는 따로 설치 분리하여 22-23°C를 유지하고, 40-60% 습도를 유지하였다. 관리자는 한사람이 고정 배치되어 3-4일 한 번씩 Hibitan 용액으로 복도와 무균실내를 청소하였다. 무균실에서 clean rack에 2 mice/cage 씩 나누어 무균적으로 3-4일에 한번씩 무균갈집과 무균사료, 그리고 소독된 물을 소독된 cage와 함께 갈아줘 세균 감염이 되지 않도록 하였고, 손은 70% alcohol로 소독하고 소독된 일회용 glove를 착용하였으며 7-10주령까지 사육하여 쥐에  $10^6$ /ml의 cancer cell을 inoculation하여 1-2주후 tumor growth가 확인되면 무작위로 대조군과 대상군으로 나누어 대조군은 5%포도당액을 주사하고 대상군은 Photofrin을 주사하여 30시간 후 laser irradiation을 He-Ne Laser의 경우 20mW, 30mW에서 5분, 10분, 20분씩 그리고 Diode Laser는 20mW, 40mW, 60mW로 5분과 10분씩 tumor에 가하였다. 감염이 의심되면 APR(acute phase reactants) test와 NBT(nitroblue tetrazolium) test를 하여 분리하였다.

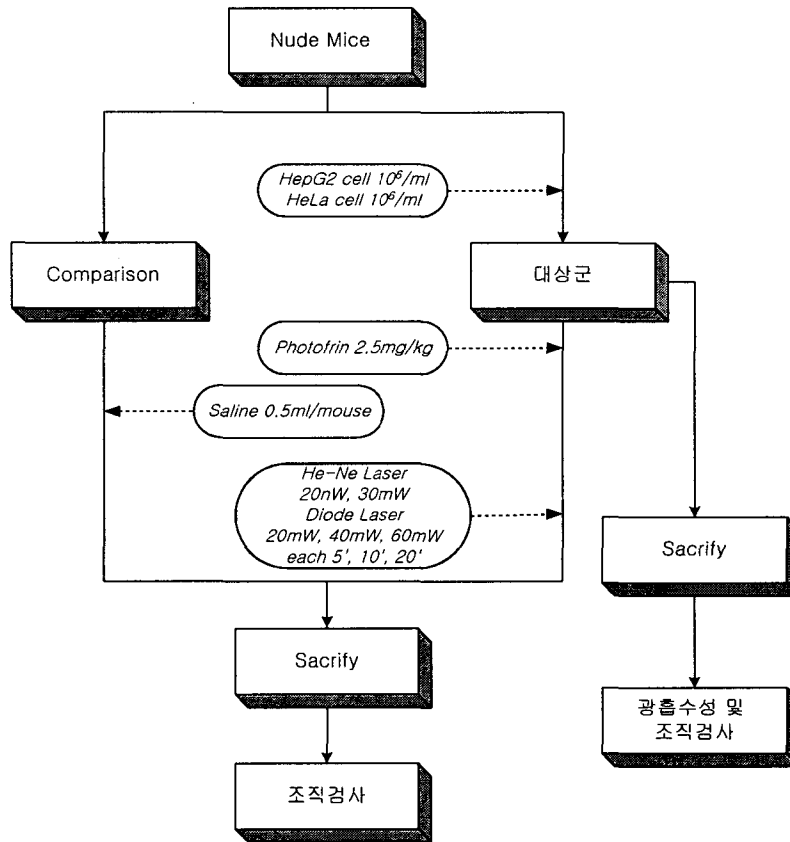


Fig. 3. Method

광감작제 Photofrin은 Canada B.C.의 QLT PhotoTherapeutics사에서 직접 구입하여 암실에서 5%포도당액으로 2.5mg/ml로 만든 뒤 1ml/tube로 분주하여 -20℃에 냉동 보관하였고 2.5mg/kg of mouse로 복강내 투여하였다.

Laser 조사 후 3일째부터 종양부위의 색이 변하기 시작하였으며 1주일 후 sacrifice시켜 조직검사를 시행하였다.



Fig. 4. Nude mice with tumor implanted by HeLa cell

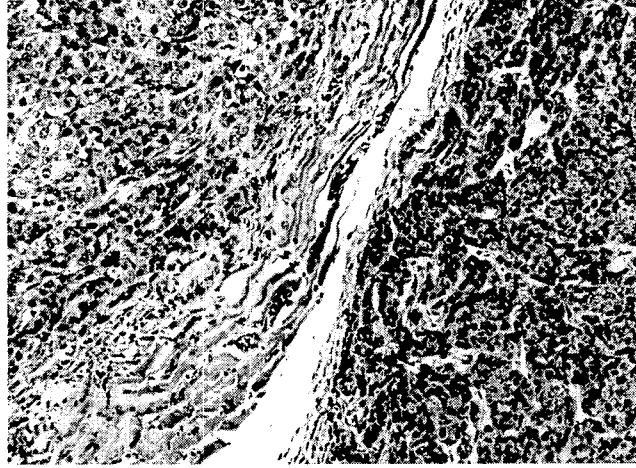


Fig. 5. Cancer cell nests  
(implantation by HeLa cell)  
infiltrating into muscle bundles (H&E 200 $\times$ )

그림 4.는 HeLa Cell로 배양하여 10일 후에 촬영한 누드 마우스이다. 직경 50mm크기의 종양을 볼 수 있다. 그림 5.는 HeLa Cell로 배양하여 10일 후에 조직검사하여 촬영한 암세포 조직이다. 그림 6, 7은 HeLa cell tumor infiltration한 mouse에 PhotoGem 주사후 출력을 높여서 조사한 후 1주일째 시행한 조직 검사 사진으로 광범위한 tumor tissue 괴사가 보이고 있다.

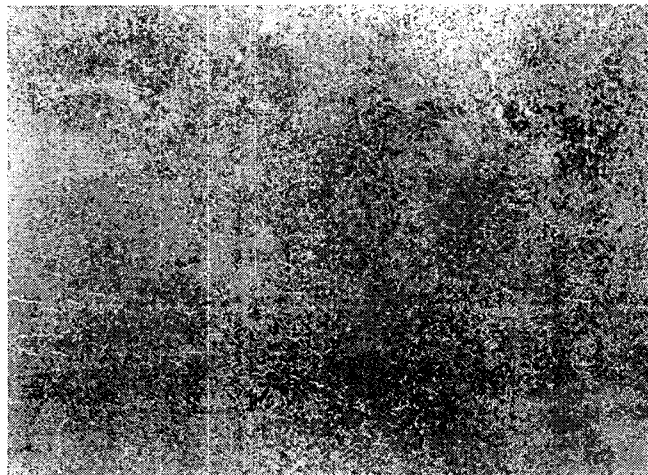


Fig. 6. Necrotic change after PDT  
660nm, 60mW, 5minutes, (H&E 200 $\times$ )

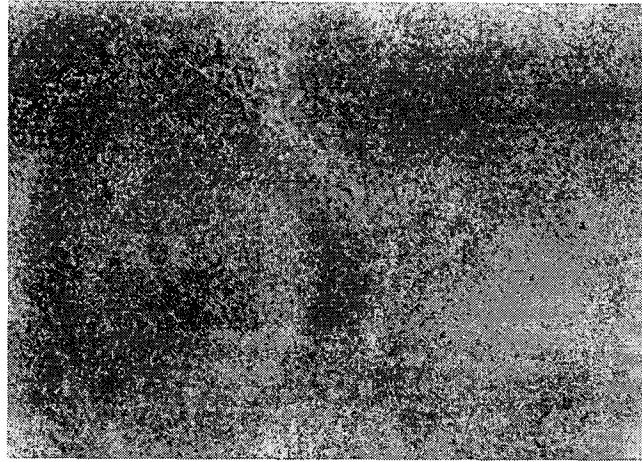


Fig. 7. Necrotic change after PDT  
660nm, 20mW, 5minutes, (H&E 200×)

### Ⅲ. 고찰 및 결론

암의 광역학적 치료를 위한 새로운 시스템으로서 기존의 레이저 시스템이 갖는 단점을 보완하기 위하여 다이오드 레이저를 제시하고, 다이오드를 이용한 레이저 시스템을 구현하였다.

본 연구에서는 기존의 광역학적 치료를 위한 레이저 시스템의 단점으로 지적되어온 큰 부피로 인한 이동의 어려움, 불안정한 출력의 세기와 파장, 냉각문제, 유지보수의 어려움 등을 보완·해결하였으며, 이 시스템을 이용하여 동물실험을 수행하였다.

HeLa cell line을 이용하여 subcutaneous에 tumor를 implantation 시켜 실험동물모델을 완성하였다. 광감작제의 투여 후 사망하거나 행동의 이상을 보인 쥐는 하나도 발견되지 않았고 정상적인 생활을 하였으며 광감작제의 안정성을 발견하였다. HeLa cell에 의한 종양에 diode laser 660nm를 이용한 광역학적 치료법의 성공적인 치료 성적을 보여주고 있다.

### Ⅳ. 참고문헌

1. U.A. Ablitsov, M.I. Kuzin, L.E. Loginov and L.V. Uspensky, "Photodynamic therapy of lung cancer", SPIE, vol.2625, pp. 451-452 (1996)
2. J.S.Jr. McCaughan, "Photodynamic therapy of Malignancies", Ohio, CRC Press, pp. 1-51 (1992)
3. T.J. Dougherty, R.E. Thoma, D.G. Boyle and K.R. Weishaupt, "Photoradiation therapy of malignant tumors; role of the laser", New York, Springer-Verlag, pp. 67-75 (1980)
4. R.D. Barabash, J.S.Jr. McCaughan and A.S. Kolobanov, "Scanning laser system for combined fluorescent diagnosis and photodynamic therapy: structural design, preliminary trials, and potentials", IEEE J Quantum Electron vol. 26, pp. 2226-2231 (1990.)