

# ALA 광감각제를 이용한 자궁경부암세포 증식 억제 효과 연구

김민경 · 박소윤 · 이연진 · 최세운\*

국립금오공과대학교

## The Effect of Cervical Cancer Cell Growth Suppression Using ALA Photosensitizer

MinKyung Kim · SoYun Park · Eonjin Lee · Se-woon Choe\*

Kumoh National Institute of Technology

E-mail : pds08134@kumoh.ac.kr / alice3913@kumoh.ac.kr /

eonjin@kumoh.ac.kr / sewoon@kumoh.ac.kr

### 요 약

광역학 치료는 빛을 이용해 암을 치료하는 방법 중 하나로, 레이저 조사시 광감각제가 반응하여 산소와 결합해 암세포를 파괴한다. 이 치료법은 암 환자들에게 부작용을 최소화하는 치료로 각광 받고 있다. 그 중 광감각제는 종류에 따라 치료 부위, 치료 효과, 흡수되는 정도가 다르게 나타난다. 따라서 본 연구에서는 광감각제 중 5-ALA를 주입한 HELA 세포주에 Blue LED를 조사하여 암세포 증식 억제 효과의 정량적 평가 연구를 진행하였다.

### ABSTRACT

Photodynamic therapy is one of the ways to treat cancer using light and during laser irradiation, photosensitizers react and combine with oxygen to destroy cancer cells. This treatment is in the spotlight as a treatment that minimizes side effects in cancer patients. Among them, photosensitizers differ in the treatment area, treatment effect, and degree of absorption depending on the type. Therefore, in this study, a quantitative evaluation study was conducted on the effect of inhibiting cancer cell proliferation by irradiating blue LEDs on HELA cell lines injected with 5-ALA among photosensitizers.

### 키워드

Hela cell, Light-emitting diode, 5-ALA, Image processing, cervical cancer

### 1. 서 론

광역학 치료(Photodynamic therapy, PDT)는 체내의 산소, 광원(light)과 광감각제(Photosensitizer, PS)를 이용한 새로운 암 치료 방법이다. 그 원리는 체내의 산소와 빛에 예민한 반응을 보이는 광감각제가 레이저에 의하여 화학적인 반응을 일으켜 생성되는 단일항 산소와 이에 의하여 유발되는 자유라디칼(비공유 전자를 갖는 원자, 분자, 이온)이 암세포를 손상시키는 것이다. 그 중 광감각제의 종류에

따라 치료 부위, 치료 효과, 흡수되는 정도가 다르게 나타난다.

따라서 본 연구에서는, 광감각제 ALA (5-Aminolevulinic acid hydrochloride)가 HELA (자궁경부암세포)에 주입되었을 때 나타나는 치료 효과를 확인하고자 한다. 각각의 HELA세포와 ALA가 주입된 HELA세포에 BLUE 파장대의 LED를 조사한 후, 현미경을 통해 얻은 이미지를 영상처리 및 통계분석을 통해 유의미한 차이를 보이고자 한다.

\* corresponding author

## II. 실험 내용

### 2.1 세포배양

HELA 세포는 한국 세포주 은행에서 구입하였으며, 고농도의 글루코오스가 포함된 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)와 10%의 Fetal Bovine Serum (FBS), 1%의 Penicillin Streptomycin로 구성된 배지 용액을 사용하였으며 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건하에 배양기에서 배양시켰다. 각 세포는 플라스크에서 증식시키며 주 2~3회 배지를 교환하였다. 배양된 세포는 플라스크의 약 40%가 증식되었을 때, Phosphate - buffered saline (PBS)을 이용하여 3차례 세척 작업을 하여 세포 부유물과 단백질을 제거한다. 그 후 6 well plate에 분주하여 24시간을 5% CO<sub>2</sub>가 유지되는 배양기에서 배양하였다.

### 2.2 광감각제 처리

ALA는 phosphate buffer solution (PBS)에 희석하여 다양한 농도의 stock solution (5mM, 4mM, 3mM, 2mM, 1mM, 0.5mM) 을 준비하고, 각 웰에 40 × 10<sup>3</sup> cell/well의 HELA를 분주한 후 ALA stock solution에 DMEM을 추가 후 항온수조에 30분 동안 heat-inactivation을 진행한다. DMEM을 제거 한 후 배지를 첨가한 뒤 6-well plate에 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건하에서 배양하였다.

### 2.3 자극인가

6-well의 각 well의 중심에 470nm의 Blue LED를 일정하게 조사하기 위해 3D 프린터(Cubicon 3DP-310F, High Vision System, Seongnam, Korea)에서 출력한 고정 프레임을 이용하였다. 각 well에 분주한 세포가 30% 정도 배양 되었을 때를 실험의 0일차(Day 0)으로 지정하고, LED 조사를 시작하였다. 그림 1에서와 같이 LED는 각 well의 ROIs에 동시다발적으로 30분동안 준비된 모든 세포의 그룹에 모두 동일한 조건에서 진행되었다.



그림 1. BLUE LED 자극 인가

### 2.4 영상획득

세포 이미지는 매일 자극 인가 전 역상 광학 현

미경(Inverted fluorescent microscope, IX73, Olympus, Japan)을 이용하여 촬영하였다. 촬영한 사진을 바탕으로 각 6well의 레이저 조사 유무와 광감각제 ALA에 따른 억제 효과와 차이를 알기 위해 그림 2와 같이 MATLAB (MathWorks, Natick, MA, USA)을 이용하여 분석하였다. 6well의 면적과 비교하여 세포의 평균 증가분 (%)을 비교 분석하였다.

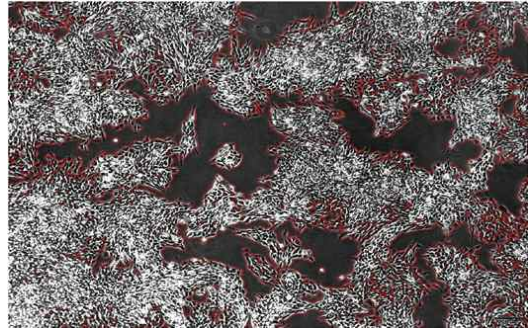


그림 2. MATLAB을 이용한 영상 처리

## III. 실험 결과

표 1. HELA 세포 증식 사진

	Control		LED	
	Day1	Day3	Day1	Day3
HELA				

표 2. ALA가 주입된 HELA세포의 증식 사진

ALA	Control		LED	
	Day1	Day3	Day1	Day3
5mM				
4mM				
3mM				
2mM				
1mM				
0.5mM				

표1과 2는 날짜에 따른 HELA 세포의 Day1과 Day3의 증식 사진을 나타내었고, 그 결과 농도에 따른 HELA 세포의 평균 증가분은 그림3과 같다.

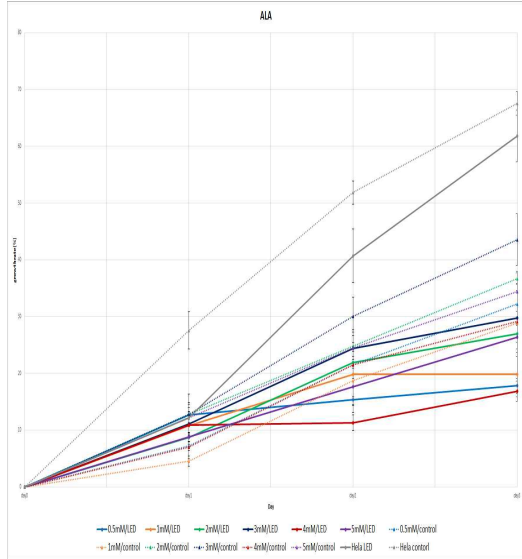


그림 3. ALA농도에 따른 평균증가분(%)

References

[1] D. Behera, S.K. Jindal and S.C. Sharma, “Ifosfamide combination chemotherapy for advanced lung cancer” *Postgraduate Institute of Medical Education and Research*, vol. 11, pp. 3, June 1994

[2] Y. S. Kim, J. S. Park, Y. K. Jee and K. Y. Lee, “Photodynamic Therapy induced Cell Death using ALA and 632nm Diode Laser in A549 Lung Cancer Cells” *Tuberculosis and Respiratory Diseases*, Vol. 56, No. 2, pp. 178-186, Feb. 2004

IV. 결 론

본 연구에서는 광감각제 ALA를 이용한 광역학 치료법이 HELA 세포의 증식 억제에 효과가 있는지 확인하였다. HELA 세포에 LED 자극을 인가하고, ALA를 HELA 세포에 주입하여 LED 자극을 인가하여 그 결과를 바탕으로 현미경에서 얻어진 이미지를 영상처리하여 확인하였다.

그 결과, HELA세포보다 ALA를 주입한 HELA 세포가 억제 효과가 크게 나타났다. 또한 ALA를 주입한 HELA가 ALA를 첨가하지 않고 LED만 인가한 HELA 세포보다 증식률이 낮게 나타났다. 따라서 ALA는 HELA 세포의 억제 효과를 증가시켜 주며 ALA와 LED를 복합적으로 사용하는 경우 가장 탁월한 효과를 보여주었다. 향후 본 연구를 바탕으로 광역학치료의 광감각제 연구에 기반이 될 것으로 사료된다.

Acknowledgement

이 논문은 2022년도 교육부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 지자체-대학협력기반 지역혁신사업의 결과입니다.