

광역학적 치료법을 이용한 쥐의 악성종양 괴사

임현수, 변상현¹

충남대학교 의과대학 의공학교실, 소아과학교실
(2003년 4월 2일 접수, 2003년 11월 8일 채택)

Mouse Tumor Necrosis Using Photodynamic Therapy

Hyun Soo Lim, Sang Hyun Byun¹

Department of Biomedical Engineering, Pediatrics¹,
College of Medicine Chungnam National University
(Received April, 2, 2003. Accepted November, 8, 2003)

요약 : 본 논문은 쥐의 악성종양에 대한 광역학적 치료효과를 조사한 연구이다, 실험방법으로서는 쥐를 대조군과 대상군의 두 그룹으로 나누어 HepG2 and HeLa cell line을 주입하여 암조직을 배양하였다. 쥐의 악성종양에 포토포르린을 30시간 전에 주입하고 630nm와 650nm의 레이저를 적용하였다. 광역학적 치료후에 쥐의 두 그룹에 대한 악성종양크기, 괴사율, 악성종양 성장률, 악성종양조직의 병리학적 변화를 분석하였다. 실험결과 조직에서 악성종양세포의 괴사를 보였으며, 광조사 시간과 광량에 따라 악성종양 크기가 줄어들고 악성종양의 괴사변화를 나타냈다. 그러나 630nm와 650nm의 파장차이에 대한 악성종양의 변화의 차이는 발견할 수 없었으며 다른 정상조직에서의 손상도 발견되지 않았다.

Abstract : In this paper, we investigated the effects of the photodynamic therapy(PDT) for the tumor mass in mice. In the experimental method, we divided the mice into two control and test group which HepG2 and HeLa cell line induced cancer mass in mice. Photofrin was administered to the tumor-bearing mouse, followed 30 hours later by 630nm and 650nm laser light exposure. After photodynamic therapy we analyzed the two mice group for the tumor mass size, tumor growth, tumor cell necrosis, pathological anatomy change. According to the results, tumor cell necrosis was shown in the tissues which the reduce size of tumor and tumor cell necrotic change according to the irradiation time and light dose amount. The considerable difference, however, between the 630nm and 650nm wavelength was not found for the tumor cell necrotic change and other damage of normal tissue was not found.

서 론

최근 들어 암의 광역학적 치료에 대한 기술이 국내에도 보급되면서 이에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 그러나 아직도 광역학적 치료에 대한 개념이 일반 임상의학에게는 생소하고 관심있는 분야와 제한 범위에서 연구가 이루어지는 실정이다. 따라서 이에 대한 광역학적 치료개념을 정확히 알고 그 효과를 객관적으로 검증하기 위하여 본 연구는 쥐의 악성종양에 대하여 실험하고 분석하였다.

악성종양의 광역학적 치료(photodynamic therapy:PDT)는 종양치료의 새로운 기술로서 암세포에서 선택적으로 취하는 광감작제를 주사한 후 2-3일이 되면 암세포는 정상조직에 비하여 광에 민감해지는 것을 이용한 치료법이다. 이때 적절한 광을 조사하면 광감작제는 oxygen radical을 방출함으로써 세포를 파괴하게 되는데 광감작제를 더욱 많이 함유한 암세포는 대량 파괴되나 정상조직은 손상을 주지 않는다. 이는 기존의 화학요법이나 방사선 치료 및 수술요법과는 전혀다른

차원의 새로운 치료법임을 알 수 있다. 또한 PDT는 환자에게 기존의 치료법이 갖는 많은 부작용 없이 반복적으로 시행할 수 있으므로 앞으로 각광받는 치료법이 될 것이다. 그러나 현재는 그 용도가 제한적이며 몇몇 암에만 적용되기 때문에 보다 많은 연구가 뒤따라야 할 것이다. 또한 PDT의 레이저 시스템은 대부분 630nm의 레이저로서 광감작제가 한두가지로 제한되어 있고 고가의 기기로 의료기관에 보급이 용이하지 못하다. 본 연구에서는 기존의 레이저보다 저렴하고 용이하게 개발할 수 있는, 650nm의 레이저를 개발하여 630nm의 치료기와 더불어 광역학적 치료효과를 조직병리학적 비교분석하였다. 또한 쥐의 악성종양에 대한 치료전과 치료후의 광량과 광 조사시간에 따른 종양괴사의 변화를 관찰하고, 악성종양크기와 면적, 종양성장율, 조직의 괴사율 등을 정량 분석하였다.

MECHANISMS OF PDT TUMOR DESTRUCTION

1) Direct ¹O₂ cytotoxic effects

직접적인 cytotoxic effect는 ¹O₂에 의해 세포내 구성조직인 mitochondria, membrane system 등의 물리화학적인 손상으로 고유의 작용이 중지됨으로써 발생하는 종양세포 조직의 괴사를 말한다. Singlet oxygen에 의한 직접적인 종양세포의

본 연구는 한국발명진흥회 2003년 중소기업기술혁신개발사업의 지원으로 이루어졌음.

통신저자 : 임현수, (301-721) 대전시 중구 대사동 640
충남대학교병원 의공학과

Tel : 042)220-7829 fax : 042)220-7973

Email : hslim@cnu.ac.kr

괴사는 종양치료에 필요한 6-8-log reduction에 비해 1-2-log reduction보다 적은 양의 효과를 보인다. 그 이유는 photosensitizer의 불균일한 분포와 조직내 산소의 농도 및 활성산소의 짧은 free diffusion length (200Å), photobleaching 등에 기인한다.

2) Vascular effects

vascular damage와 blood flow stasis는 solid tumor에 대한 PDT 시술의 중요한 결과이며 long-term tumor control에 기여한다. 대부분의 경우 laser light 조사 후 endothelial cell 손상을 가져오고 vessel lumen에서 혈전 형성과 곧이어 arterioles, capillaries, postcapillary venules 등에 leukocyte adhesion, vasoconstriction, vascular permeability의 증가 vasodilation 및 blood cell과 platelet의 결집 등의 병리적 장애가 나타난다(시술 부위 색깔의 변화가 보임). 따라서 혈류 속도의 감소 및 궁극적으로 혈행정지를 유발하여 종양세포의 hypoxia/anoxia와 종양괴사를 유도한다.

3) Immunologic effects

① PDT-induced inflammatory effect:membrane lipid의 photooxidation에 따라 phospholipase A2를 활성화시켜 lipid degradation과 arachidonic acid를 유발한다. 종양혈관의 상피 세포에서는 기저막이 혈관벽에 노출되어 neutrophil, platelet

등이 붙어 혈관작용의 손상과 다양한 inflammatory mediator, 즉 vasoactive substance, clotting cascade, acute phase proteins, proteinase, peroxidase, cytokines, leukocyte chemoattractants, growth factor를 유발한다. 따라서 prostaglandin endoperoxides, thromboxane A2의 형성, master cell의 degranulation과 histamine, prostagladine D2, platelet activator factor의 분비는 PDT 후의 tissue edema를 설명해준다[12]. 이어서 hyperemia, plasma exudation과 stasis가 유발되고 적혈구의 혈관유출 백혈구의 침윤을 야기 하며 혈관벽의 과열이 발생한다.

② neutrophils에 의한 직접적인 혈관조직 손상외에 onocyte/macrophages에 의한 tumoricidal activity가 있다. Macrophage는 PDT에 의해 손상된 종양세포를 target으로 TNF-α을 분비하여 종양세포의 직접적인 phagocytization과 hemorrhagic necrosis를 조정하여 tumor regression에 기여한다.

4) Apoptosis

PDT에 유도된 apoptosis는 laser light 조사 후 보통 30분 이내에 일어나며 mitochondrial photodamage와 관련 있다. Cytochrome c, mitochondrial factor, mitochondrial permeability의 증가 등이 apoptosis를 유발시키는 작용을 한다. PDT후의 apoptotic cell death는 cell cycle이나 p53 같은 유전적 상태(wild type 혹은 mutant)에 관계없이 일어난다.

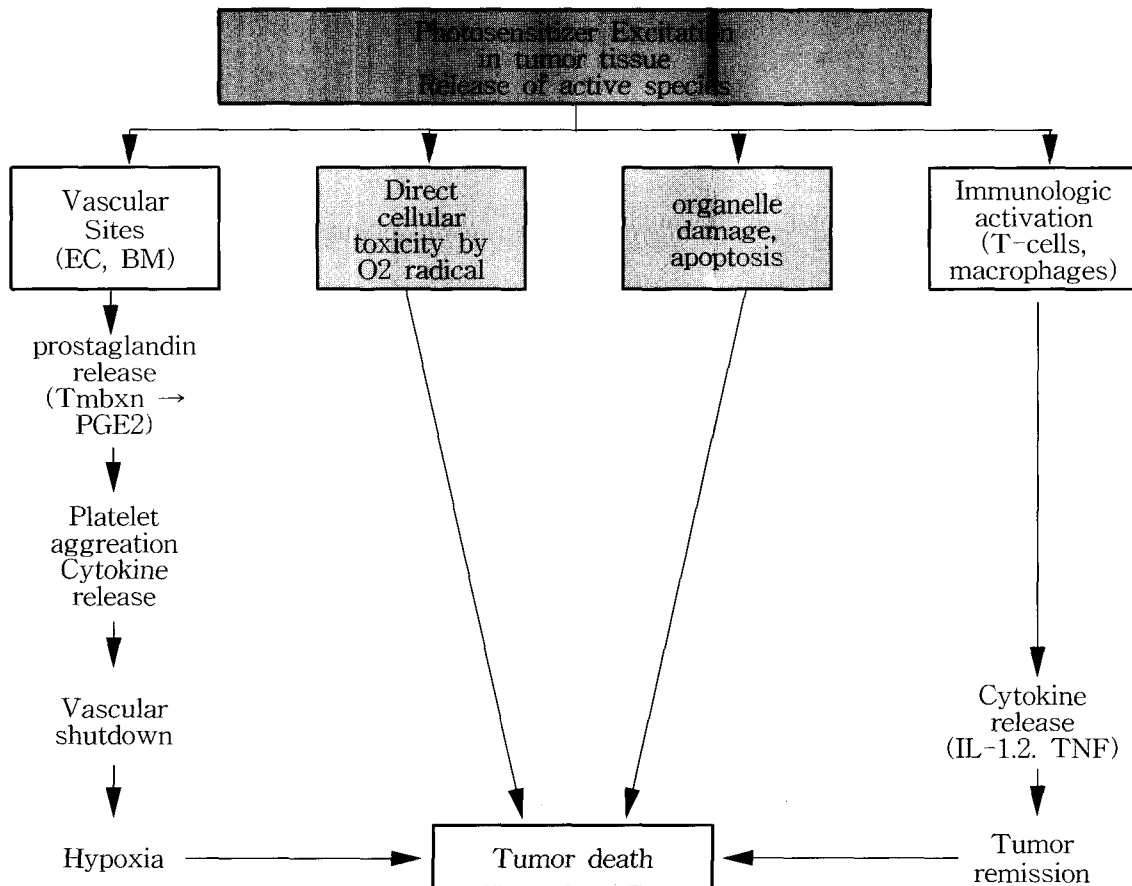


그림 1. 광역학적 치료의 악성종양 괴사 메카니즘
Fig. 1. Mechanisms of PDT Tumor destruction

재료 및 방법

1) 레이저 시스템의 제작

레이저 치료기는 기존의 치료기와 같은 파장대의 630nm Helium-Neon dye laser와 (주)Bio-Optics에서 만든 650nm Diode laser를 이용하였고, 광감작제로는 현재 치료제로 사용되는 Photofrin-R(QLT PhotoTherapeutics Inc, Vancouver, British Columbia)을 사용하였다. 실험 동물로는 SPF/VAF mouse (BALB/ cAnNCrj-nu/nu)를 Charls River사로부터 공급받아 인체 암세포주를 배양하여 주사함으로써 암조직을 키 워 실험하였다.

(주)바이오옵틱스가 개발한 PDT 레이저 시스템¹²⁾은 안정된 출력과 파장을 가졌으며, 필요로 하는 출력 세기를 원하는 밀리암페어(mA)에서, 정해진 시간 동안 방사할 수 있도록 개발되었으며 그림 2와 같다. 입력부에서는 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 레이저공진기(Laser resonator)에서 650nm의 레이저가 발생하게 되며, 레이저 전원장치(Laser Power Supply, Current detector, Laser power controller)는 스위치 모드를 채택한 전원장치(SMPS)로서 공진기의 전류를 제어하여 설정된 출력의 세기와 방사모드를 실현하였다. 광전송장치(Light delivery and optical assembly)는 최종 출력된 레이저빔을 인체의 조직까지 전달하는 역할을 하게 된다.

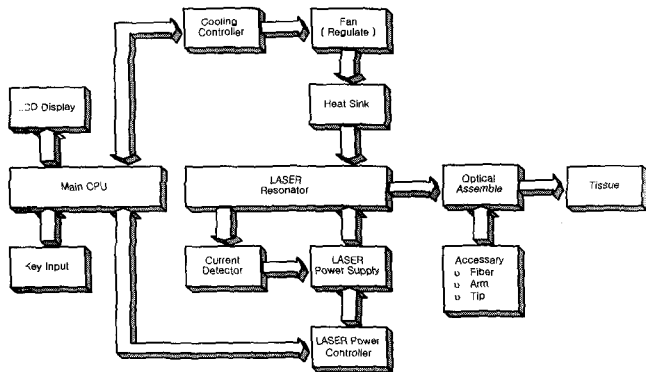


그림 2. 시스템의 블록도
Fig. 2. System block diagram

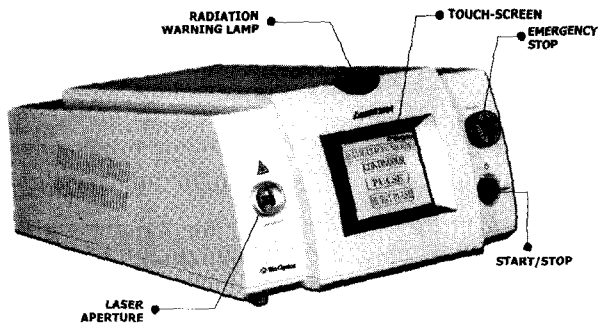


그림 3. 구현된 레이저 시스템

2) 동물실험

동물실험은 누드 마우스를 이용하고 쥐들을 대조군과 대상군으로 나누어 각군에 대한 종양크기의 변화, 종양성장률, 피사율, 종양의 병리학적 변화 등을 비교하기위해 그림 4와 같은 실험과정을 수행하였다.

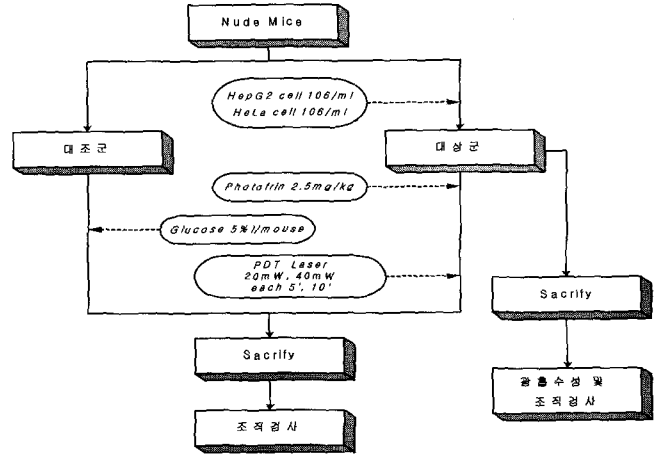


그림 4. 실험 과정
Fig. 4. Procedure of experimentation

Cell line의 배양은 HepG2(ATCC HB-8065) cell과 HeLa cell(ATCC CRL-7396)을 사용하였으며 HepG2(ATCC HB-8065) cell은 전 처치로 sterile condition하에 37°C water bath에 rapid agitation (40-60sec.)하여 Thawing한 후 ice에 melt하고 ampule을 제거하였다. Hep G2 cell을 Eagle's MEM(10% FBS, 2mM glutamine)에 37°C in a humidifier air atmosphere of 5%CO₂에서 배양하였다.

HeLa cell(ATCC CRL-7396)은 전 처치로 sterile condition하에 37°C water bath에 rapid agitation (40-60sec.)하여 Thawing한 후 ice에 melt하고 ampule을 제거하였다. 0.3-0.5x10⁵ cells/ml 농도로 10% fetal bovine serum (GIBCO), MEM Na pyruvate, MEM non-essential amino acid, penicillin G(100 U/ml), streptomycin (100µg/ml)과 2-mercaptoethanol (5 x 10⁻⁵M, Biorad)이 첨가된 RPMI 1460 배지 (완전세포배양액)에 부유하여 3일 간격으로 계대 배양하였다.

암세포 주입은 7-10주까지 사용하여 쥐에 10⁶/ml의 cancer cell을 inoculation하여 1-2주후 tumor growth가 확인되면 일부는 sacrifice시켜 광흡수계수를 구하고 조직검사를 통한 기본 조직을 확인하였다. 무작위로 대조군과 대상군으로 나누어 대조군은 5%포도당액을 주사하고 대상군은 Photofrin을 주사하여 30시간 후 laser irradiation을 각각 20mW와 40mW로 5분과 10분씩 tumor에 가하였다. Photofrin은 Canada B.C.의 QLT PhotoTherapeutics사에서 직접 구입하여 암실에서 5%포도당액으로 2.5mg/ml로 만든 뒤 1ml/tube로 분주하여 -20°C에 냉동 보관하였고 2.5mg/kg of mouse로 복강내 투여하였다. 레이저의 치료는 630nm과 650nm를 각각 20mW와 40mW로 각각 5분과 10분씩 종양에 직접 조사하였다(그림3).

결과

암 세포주입후 1주가 지나면서 tumor의 성장이 관찰되기 시작하였으며 2주째에는 매우 크게 자라는 것을 확인할 수 있었다(그림 5, 그림 6). 광감작제의 투여 후 사망하거나 행동의 이상을 보인 쥐는 하나도 발견되지 않았고 정상적인 생활을 하여 주사제의 안전성을 확인할 수 있었다. 레이저 조사후 3일째부터 종양부위의 색이 변하기 시작하였다.

표 1. 광파장에 따른 정상조직과 종양조직의 광학 흡수계수 비교

Table 1. Absorption coefficient comparison between normal tissue and tumor tissue according to two optical wavelengths.

	630nm	650nm
Muscle	0.79508	0.80115
Fat	0.73252	0.64500
Brain	0.64494	0.59060
Tumor	1.17047	1.31762

표 2. HepG2 cell line(대조군 : 5% 포도당액 주사)

Table 2. HepG2 cell line(control group : 5% glucose injected)

파 장	조사 전	조사 후							
		630nm				650nm			
		5분		10분		5분		10분	
광 조사 시간									
광 량		20mW	40mW	20mW	40mW	20mW	40mW	20mW	40mW
Size(평균)	1.6×1.2cm	2.2×1.8	2.3×2.2	2.3×2.4	1.9×2.5	2.2×2.3	1.9×2.7	2.4×1.9	2.1×2.3
증양성장률		206.3%	263.5%	287.5%	247.4%	263.5%	267.2%	237.5%	251.6%
면 적	1.92cm ²	3.96	5.06	5.52	4.75	5.06	5.13	4.56	4.83

표 3. HepG2 cell line(대상군 : Photofrin 2.5mg/kg)

Table 3. HepG2 cell line(test group : Photofrin 2.5mg/kg)

파 장	조사 전	조사 후							
		630nm				650nm			
		5분		10분		5분		10분	
광 조사 시간									
광 량		20mW	40mW	20mW	40mW	20mW	40mW	20mW	40mW
Size(평균)	1.5×1.2cm	1.0×1.1	0.9×0.8	0.9×0.9	0.7×0.5	1.2×0.9	0.9×0.8	0.8×1.0	0.6×0.6
Necrosis	없음	1.63	2.5	2.22	5.14	1.67	2.5	2.25	5
면 적	1.8cm ²	1.1	0.72	0.81	0.35	1.08	0.72	0.8	0.36

표 4. Hella cell line(대조군 : 5% 포도당액 주사)

Table 4. Hella cell line(control group : 5% glucose injected)

파 장	조사 전	조사 후							
		630nm				650nm			
		5분		10분		5분		10분	
광 조사 시간									
광 량		20mW	40mW	20mW	40mW	20mW	40mW	20mW	40mW
Size(평균)	1.3×1.5cm	2.2×2.4	2.1×2.6	2.7×2.1	2.2×2.8	2.9×2.1	2.4×2.7	2.1×2.9	2.7×2.8
증양성장률		270.8%	280.0%	290.8%	315.9%	312.3%	332.3%	312.3%	387.7%
면 적	1.95cm ²	5.28	5.46	5.67	6.16	6.09	6.48	6.09	7.56

표 5. Hella cell line(대상군 : Photofrin 2.5mg/kg)
 Table 5. Hella cell line(test group : Photofrin 2.5mg/kg)

파 장	조사 전	조사 후							
		630nm				650nm			
		5분		10분		5분		10분	
광 조사시간									
광 량		20mW	40mW	20mW	40mW	20mW	40mW	20mW	40mW
Size(평균)	1.4×1.3cm	1.1×0.9	0.9×0.9	0.9×0.8	0.7×0.6	1.2×0.8	0.9×0.8	0.8×1.0	0.5×0.8
Necrosis	없음	1.83	2.24	2.52	4.33	1.69	2.52	2.72	4.55
면 적	1.82cm ²	0.99	0.81	0.72	0.42	1.08	0.72	0.8	0.40

주사 30시간 후에 HepG2 cell과 HeLa cell에 의한 종양에 630nm와 650nm laser irradiation을 각각 20mW와 40mW로 5분과 10분씩 tumor에 가하였다(Fig.3,4,5,6,7,8,9,10). 조사후 Tumor의 크기가 줄었고(표 3, 표 5) 조사 1주 후에 조직 소견상 광범위한 조직의 폐사가 관찰되고 있다. 표1은 종양조직과 정상조직간의 흡수계수를 스펙트로 스코피를 이용하여 측정된 값으로 630nm와 650nm와의 광학계수차이는 미소한 차이를 보여줘 치료 효과에 대한 큰 차이가 없음을 예측할 수 있으며, 단지 파장의 차이는 투과 깊이에 따른 차이로 볼 수밖에 없을 것으로 사료된다.

도표2와 도표4는 대조군에서의 종양의 크기와 종양 성장률에서 레이저의 조사와 조사시간에 관계없이 늘어나고 있음을 나타내고 있으나, 대상군의 도표 3과 도표 5는 각과장대에서 광량과 조사시간의 차이에 의해서 평균크기가 줄어들고 있고, 폐사율이 늘어나고 있음을 나타내고 있으며, 630nm와 650nm의 파장에 의한 변화는 큰 차이가 없었다.

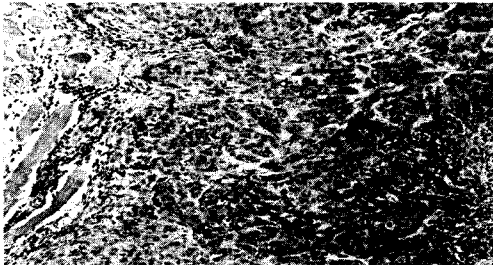


그림 5. 근섬유에 암세포가 침윤된 모습(HepG2 cell)
 Fig. 5. Cancer cell nests(implantation by HepG2 cell) infiltrating into the muscle bundles(H&E 200X)

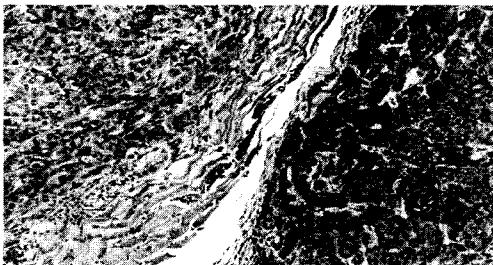


그림 6. 근섬유에 암세포가 침윤된 모습(HeLa cell)
 Fig. 6. Cancer cell nests(implantation by HeLa cell) infiltrating into muscle bundles(H&E 200X)

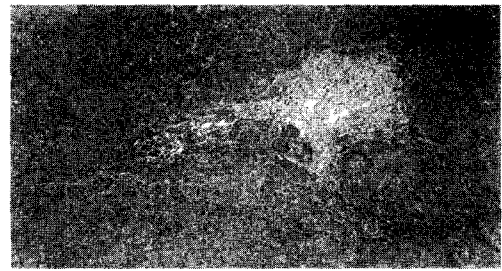


그림 7. PDT 후 암세포가 괴사된 모습(630nm, 20mW, 5분)
 Fig. 7. Tumor tissue shows necrotic change after PDT(H&E 200X)630nm, 20mW 5minutes

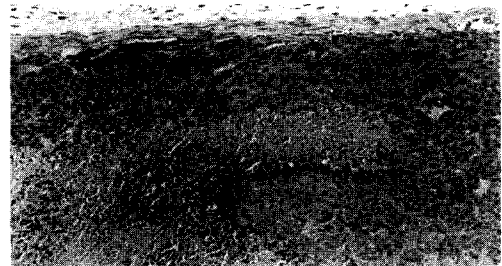


그림 8. PDT 후 암세포가 괴사된 모습(630nm, 20mW, 10분)
 Fig. 8. Tumor tissue shows necrotic change after PDT(H&E 200X)630nm, 20mw, 10minutes

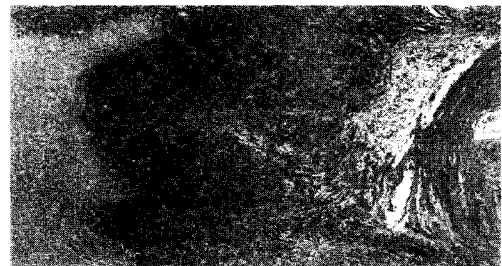


그림 9. PDT 후 암세포가 괴사된 모습(630nm, 40mW, 5분)
 Fig. 9. Tumor tissue shows necrotic change after PDT(H&E 200X) 630nm, 40mW, 5minutes

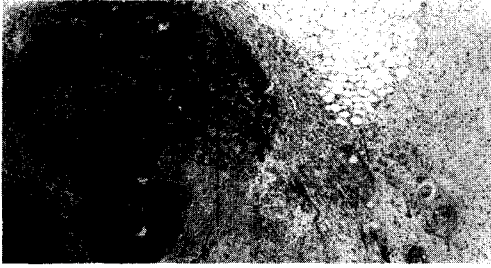


그림 10. PDT 후 암세포가 괴사된 모습(630nm, 40mW, 10분)
Fig. 10. Tumor tissue shows necrotic change after PDT(H&E 200X)630nm, 40mW, 10minutes

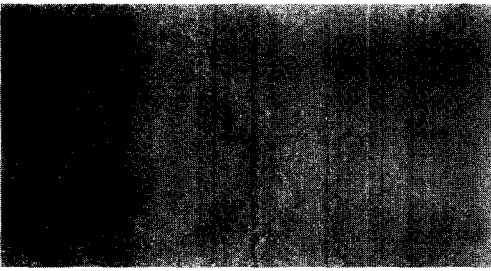


그림 11. PDT 1주 후 암세포가 괴사된 모습(650nm, 20mW, 5분)
Fig. 11. Tumor tissue shows necrotic change after 1week 650nm, 20mW, 5minutes

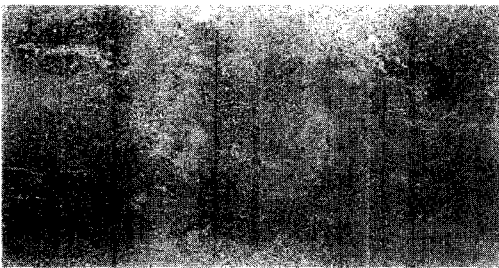


그림 12. PDT 1주 후 암세포가 괴사된 모습(650nm, 40mW, 5분)
Fig. 12. Tumor tissue shows necrotic change after 1week 650nm, 40mW, 5minutes

조직병리학적 검사에서도 대조군(5% 포도당액 주사)에서는 레이저 시술과 관계없이 계속 종양의 크기가 증가하는 반면, 대상군에서는 종양의 크기가 조사한 광량과 시간에 비례하여 감소함을 볼 수 있고, 종양괴사율(Necrosis)이 높아지는 것을 확인하였다.

고 찰

PDT는 porphyrin 이나 phthalocyanine과 같은 dye가 광과 같이 작용함으로써 효과를 나타낸다. 흥분된 상태의 dye는 triplet oxygen을 세포에 치명적인 singlet로 전환 시킨다. 그리하여 종양으로 조사된 광은 암세포의 파괴를 유도할 수 있다(1,2). PDT를 시행함에 있어 하나의 문제는 광 조사의 종양으로의 접근성이고 또 다른 문제는 다른 정상 조직에는 손상을 주지 않고 종양조직만 dye가 모이게 할 수 있는가 하는 것이다. 후자에 대한 방법으로 종양특이항체를 이용한 광감각제를 생각하였으나(3), 이단백

(foreign protein)의 사용이 좋지 않을 것으로 생각된다. 이에 다양한 광 감작제의 개발 및 실험이 있었다(4). 그러나 광감각제에 대한 부작용중 광과민성 화상을 지적한 이도 있었다(5).

PDT는 in vitro 와 in vivo 상황에서 세포사를 일으킨다(6-8). 그 기전은 최근 주목을 받아 왔는데, 이에 phospholipases A2 와 C 뿐만 아니라 세포내 Ca²⁺의 증가등이 관여하는 것으로 알려졌다(9). 최근에는 쥐의 임파종(L5178Y)세포의 PDT 유도 세포사의 과정중에 ceramide generation이 관여하는 것이 밝혀졌다(10). 또한 C3H 마우스에서 방사유도 fibrosarcoma cell (RIF-1)-implanted tumors(8)와 마우스에서 약물로 유도된 squamous papillomas의 제거의 초기 현상으로 세포사가 나타났다(11). 이러한 PDT 항암치료의 기전은 치료방법의 효과가 검증됨으로써 이해되게 되었다.

현재 사용되고있는 광감각제로는 PhotofrinR 과 PhotogemR 등이 있으나 사용 가능한 레이저 파장의 범위가 한정되어 있어 본 연구에서는 650nm의 파장을 이용하여 효과를 검증해 보았다. 그 결과 630nm의 파장과 650nm의 파장에서 모두 세포사의 병리 소견이 발생하였다. 이로써 650nm의 광감각제의 발생기 산소의 발생에 효과가 있는 것으로 생각되나 임상적으로 사용하기 위해서는 더 많은 종류의 암에 대한 연구가 있어야 할 것으로 생각된다.

결 론

실험결과 두 그룹의 쥐의 조직에서 악성종양세포의 괴사를 보였으며, 광조사 시간과 광량에 따라 악성종양 크기가 줄어들고 악성종양의 괴사변화를 나타냈다. 그러나 630nm와 650nm의 파장차이에 대한 악성종양의 변화의 차이는 발견할 수 없었으며 다른 정상조직에서의 손상도 발견되지 않았다. 효과적인 광역학적 치료를 위해서는 악성종양의 상태와 크기 따라 정확한 에너지 및 광선량을 측정하여, 이를 치료시에 활용하고, 광조사 시간을 단축하기위한 출력의 크기 조절과 방사모드가 매우 큰 변수로 작용함을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Dougherty, T. J., Gomer, C. J., Henderson, B. W., Jori, G., Kessel, D., Korbelik, M., Moan, J., & Peng, Q. (1998). *J. Natl. Cancer Inst.*90,
2. Wöhrle, D., Hirth, A., Bogdahn-Rai, T., Schnurpfeil, G., & Shopova, M. (1998). *Russ. Chem. Bull.*47, 807816.
3. Ruebner, A., Kirsch, D., Andress, S., Decker, W., Roeder, B., Spengler, B., Kaufmann, R., & Moser, J. G. (1997). *J. Inclusion Phenom.*27, 6984.
4. Moser, J. G., Ruebner, A., Vervoorts, A., & Wagner, B.Szetli, J., ed. (1996) in *Proceedings of the Eighth International Symposium on Cyclodextrins* (Kluwer, Boston).
5. Kubler, AC., Haase, T., Staff, C., Kahle, B., Rheinwald, M., & Muhling, J. *Photodynamic therapy of primary nonmelanomatous skin tumours of the head and neck. Lasers Surg Med*1999; 25: 6068.
6. Agarwal, M. L., Larkin, H. E., Zaidi, S. I. A., Evans, ., Mukhtar, H., & Oleinick, N. L. (1993). *Cancer Res.*53, 58975902.
7. Separovic, D., He, J., & Oleinick, N. L. (1997). *Cancer Res.*57, 17171721.
8. Agarwal, R., Korman, N. J., Mohan, R. R., Feyes, D. K., Jawed, S., Zaim, M. T., & Mukhtar, H. (1996). *Photochem.*

- Photobiol.63, 547552.
9. Ho, Y. S., Wang, Y. J., & Lin, J. K. (1996). Mol. Carcinog.16, 2031.
 10. Gartenhaus, R. B., Wang, P., & Hoffmann, P. (1996). Proc. Natl. Acad. Sci. USA93, 265268.
 11. Hsu, C. A., Rishi, A. K., Su-Li, X., Gerald, T. M., Dawson, M. I., Schiffer, C., Reichert, U., Shroot, B., Poirer, G. C., & Fontana, J. A. (1997). Blood89, 44704479.
 12. 임현수, 광역학적 암치료를 위한 635nm 다이오드 레이저 시스템의 개발, 의공학회지 4:319-328(2003).