

KTP 크리스탈을 이용한 PDT용 레이저 시스템 개발

김병문*, 남효덕*, 김병철**
영남대학교*, 밀양대학교**

A Study on a KTP Crystal Laser System for a Cancer Using P.D.T.

Byoung-Mun Kim*, Hyo-Duk Nam*, and Byoung-Chul Kim**
Yeungnam Uni., Miryang National Uni**

Abstract

The method that exists in Photodynamic Therapy uses photosensitivity drug strongly influencing tumour accumulation together with photochemical laser effect and makes the structure of tumour be localized and become extinct. The intracavity transformation of the Nd :YAP main radiation 1079 nm was Raman converted in barium nitrate crystal and the Stokes frequency (1216 nm) was doubled using KTP or RTA crystals. The LiF or Cr:YAG crystals are used for the Q-switch. The radiation parameters were obtained at 100 Hz pump repetition frequency. The average power at 608 nm radiation with LiF and KTP was 700 mW at multi-mode generation. The 3-6 single 10-15 ns pulses were generated during one cycle of pumping. The doubling efficiency with RTA was two times more than with KTP.

The cells of Ehrlich adenocarcinoma (0.1 ml) were i.m. implanted in hind thighs of ICR white non-inbred mice. The cells were preliminarily diluted in medium 199 in the ratio of 1 to 5. HpD was intravenous administered in a dose of 10 mg/kg. The left clean-shaven hind leg was irradiated with laser light 21-27 hours after the administration of the preparation. The right non-irradiated leg of each animal served as a control. The animals with the transplanted tumor that were not injected with HpD served as a control to estimate the complex effect (HpD+ irradiation). Before the administration of HpD and on 3 and 4 days after irradiation the tumor size was measured and the percent of the tumor growth inhibition was calculated.

The results of animal treatments has shown high efficiency of PDT method for cancer treatment by means 0.608 m high power pulse solid state laser.

Key Words : PDT, KTP crystal, Q-switch, HpD

1. 서 론

최근에 이르러 새로 개발된 종양집적성이 강한 광감수성 약제와 레이저광과의 광화학적반응을 이용하여 종양조직만을 국한하여 사멸시키는 광선역학적요법(Photodynamic Therapy : PDT)이 개발되었다.^{[1][4]}

PDT는 Raab^[5]에 의하여 종양친화성물질과 광과의 광화학반응에 관한 보고에 그 기원을 찾을 수가 있다. 그러나 현재의 PDT의 기초가 된 것은 Lipson 등^[6]에 의해 개발된 헤마토프로플린 유도제가 Dougherty 등^[5]이 실시한 레이저 광 조사에서 그 효과가 증명되고 난 뒤부터이다. 본 연구에서는 종양친화성 감수성 약제를 사용하여 PDT에 실시하고자, KTP 크리스탈을 이용한 PDT용 레이저 시스템을 개발하여 실험용 쥐의 암병변에 적용하였다. 본 실험에 사용된 HpD의 제 1 흡수대역은 630 nm이고 제 2 흡수대역은 608 nm이다. 본 실험은 608 nm 파장을 만들기 위해 라만 주파수 변환(Raman Frequency Conversion)을 기본으로 하여 비선형 주파수 체배(Nonlinear Frequency Doubling)와 질산바륨(Ba(NO₃)₂) 크리스탈을 이용한 고출력펄스의 Q-스위치 레이저를 제안한다.

2. 광역학적 치료법(PDT)

PDT(Photodynamic Therapy)는 그림 1에 나타낸 바와 같이 종양친화성 광감수성 약제(Photosensitizer)와 레이저광간에 일어나는 광화학반응을 이용한 치료법인데 암 조직 중에 활성산소를 생성하여 그 작용으로 암 조직을 과산화시킴으로서 암 조직을 제거하는 방법이다.

현재 적용하고 있는 PDT 치료에서는 먼저 환자에게 이 종양친화성 광감수성 약제를 정맥 주사한 후, 일정 시간 대기하여 암 조직과 정상 조직에 있어서의 약제농도가 최대가 되었을 때 약제의 화학적 반응 파장과 일치하는 파장의 레이저광을 암 조직을 향하여 조사하게 된다. 이 때 암 조직에 취입된 약제가 화학적 반응을 일으켜, 약제가 지닌 에너지가 암 조직중의 산소에 반응하여 활성인 일중항산소를 생성하게 되는데, 암 세포는 이 활성산소의 살세포성에 의해 괴사하게 되는 것으로 알려져 있다. PDT에서 사용하는 레이저는 레이저 매스의 약 1/100 정도로 저출력일 뿐 아니라 약제가 암 조직에 선택적으로 집적하기 때문에 암 병소만을 제거하고 정상 조직에의 상해를 최소화할 수가 있다.

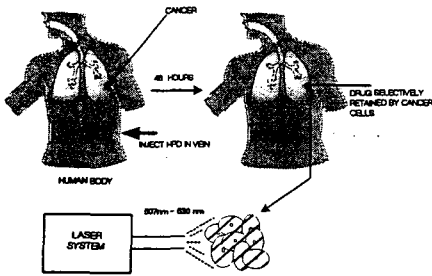


Fig. 1. How to do PDT

2.1 종양친화성 광감수성 약제 (HpD)

지금까지 생체에 적용되는 임상용 광감제로서는 독성이 적고 변이원이 없을 뿐 아니라 종양조직에 친화성을 지닌 물질로서 헤마토평피린 유도체가 주로 사용되어 왔다. 그 중에서 HpD는 1960년 Lipson^[2] 등에 의해 Hematoporphyrin-HCl를 초산과 농황산으로 처리하여 만들어진 물질로서 근자외선(360 - 410 nm)에 Soret라 불리는 강한 흡수대를, 또 가시부 (506, 536, 610 nm)에는 Q대라 불리는 약한 흡수대를 지니고 있다. 종양내에 집적된 HpD를 Soret 대의 광으로 여기하면 630 nm와 690 nm에 쌍봉성의 피크를 지닌 특유의 스펙트럼이 관찰되는데 이것을 이용하여 암병소의 존재를 진단하기도 한다. 현재는 HpD의 폴리머로서 보다 종양집적성이 높은 포토프린^[3]이 사용되는데, 507 nm에서 630nm의 레이저 광으로 강하게 여기된다. 그중 제 1 흡수대역은 630 nm이고 제 2 흡수대역은 608 nm이다. 임상에서는 포토프린을 레이저 조사의 48 시간 전에 2 mg/kg의 비율로 정맥주사한다. 포토프린은 종양조직에는 정상조직의 거의 4배가 취입되고 48시간 이상 정체한다는 특성이 있다. 정상조직에서는 간, 신장을 제외하고는 24 시간 이내에 배설되기 때문에 이 시간차를 이용하여 종양을 선택적으로 치료할 수가 있다. 정상조직과 종양조직에서 포토프린의 배설에 차이가 나는 이유는 아직까지 해명되어 있지는 않다. 그러나 정상조직보다는 악성 종양 내에 포토프린^[3]이 보다 장시간 집적되어 존재하기 때문에 종양부근에 여기광의 레이저광을 조사하면 주위의 정상 조직에는 영향을 주지 않고 종양조직만을 선택적으로 변성, 괴사시킬 수가 있다.

2.2 치료용 레이저

종양친화성 광감수성 약제의 여기광원은 레이저 개발 이전에는 수은등 등이 사용되었으나 레이저 개발에 의해 보다 여기효율이 높은 레이저광을 사용하게 되었다. 초기에는 연속파인 아르곤 다이 레이저(Argon Dye Laser)가 주로 사용되었고 그 후 금증기 레이저(Gold Vapor Laser), 동증기(Copper Vapor)레이저로 여기

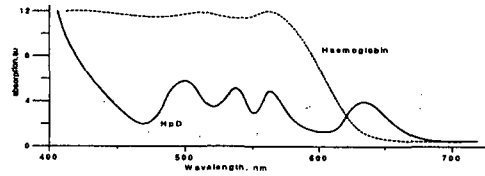


Fig.2. Schematic absorption spectra of the Hematoporphyrin Derivative and Haemoglobin of human blood.

(Excite)되는 색소 레이저(Dye Laser)등이 사용되었다.

최근에는 엑시머 레이저(Excimer Laser)로서 색소 레이저를 여기시키는 엑시머 다이 레이저(Excimer Dye Laser)가 많이 사용되고 있다. 이 레이저는 높은 침투전력의 펄스광을 발생하기 때문에 암 조직의 괴사효과가 CW 레이저인 종래의 아르곤 다이 레이저에 비하여 크다는 것이 특징이다. 엑시머 레이저는 여기 2 분자(Excimer Dimer)의 효과를 이용하는 것으로서 자외선을 발진한다. 이 자외선으로서 다시 색소 레이저를 여기시켜서 630 nm의 레이저광을 발생하여 종양친화성 광감수성 약제인 HpD를 여기 시키도록 되어 있다. 이 레이저는 관내에 주입하는 가스에 따라 발진파장이 변하는데 색소 레이저의 여기광원으로 사용할 때는 여기효율이 비교적 큰 308 nm의 발진파장인 엑시머 레이저를 사용한다. 색소 레이저는 액체 레이저로서 특정용액에 녹인 색소가 들어 있는 셀에 광을 조사하면 그 약제의 여기에 최적합한 630 nm의 펄스광이 발생한다. 이와 같이 엑시머 다이 레이저는 HpD 광감수제를 사용하는 경우 치료효과가 좋고 레이저를 사용하여야 하기 때문에 제조원가가 고가가 된다는 결점이 있다.

3 PDT 동작원리와 구조

본 실험을 위해 개발한 PDT 시스템은 종양친화성 광감수성 약제로서 HpD를 사용하고 여기 레이저로서는 YAP Rod와 파장변환용 크리스털을 조합한 것을 사용한다. 이때 사용한 여기파장은 608 nm로 하였다. 본 연구에서 적용한 HpD는 507 nm에서 630 nm 레이저광으로 강하게 여기되나 앞서 언급했듯이 제 1 흡수대역은 630 nm이고 제 2 흡수대역은 608 nm이므로 약제는 정맥 주사 후 48 시간이 경과하면 종양집적이 최대가 되고 12 시간 이상 정체되지만 정상조직으로부터 주입 후 48 시간 이내에 거의 배설된다. 따라서 레이저 조사는 정맥주사 후 48 시간 경과 후가 최적시점이 된다.

따라서 HpD를 여기시키기 위해서는 608 nm의 레이저광을 발생시키는 것이 필요한데 제안된 시스템에서는 이것을 얻기 위하여 그림 3과 같은 시스템을 사용한다.

3.1 KTP 레이저 시스템 제안

본 장치는 그림 3과 같이 1w 수준의 YAP Laser를 주축으로 한 레이저 펌프(Laser Pump)와 냉각기 및 전원장치와 레이저광을 환부에 유도하고 환부에 조사하는 삽입자를 내시경에 조합한 구성으로 되어 있다. 병소조사는 중앙표면에서 일정한 조사거리를 두고 하는 표면 조사법으로 실시한다.

그림 3의 레이저 펌프는 그림 4에 자세히 표시하였는데, 그 동작원리는 다음과 같다. 환부에 대한 처치를 할 때는 제논램프(Xenon Lamp)의 전원부를 동작시켜 약 100 Hz의 주기로 단속하는 제논램프의 강력한 백색광을 활성장치인 YAP Laser Rod(32)에 조사한다. 이 백색광을 받은 Laser Rod은 1079 nm의 Coherent 광이 발생하여 미러(Mirror) 1 (4)쪽으로 진행하여 여기서 반사하게 되는데 그 후 이번에는 반대 방향으로 진행하여 로드(32)와 크리스탈 (5), (7), (8)을 지난 후 다시 미러 2(9)에서 반사한다. 이와 같이 두 미러 사이를 왕복하면서 점차 증폭되어 강력한 레이저광으로 변하게 되는데 이 파는 세 개의 크리스탈들(5), (7), (8)을 지나면서 파장이 점차 분열하여 다른 파장의 것이 증가하게 된다. 그 중에서 최종적으로는 608 nm의 적외선 영역의 장파로 변한 성분이 미러2 (9)에서 출력이 된다. 최종출력인 608 nm의 광선은 여기서 출력이 된다. 이 출력파는 광파이버를 지나서 내시경으로 들어가서 최종적으로 암조직에 조사된다.

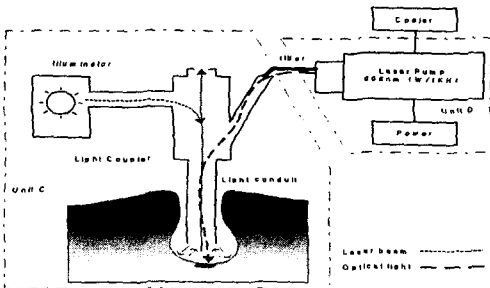


Fig. 3. Proposed System

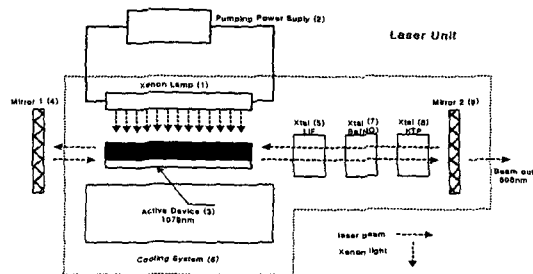


Fig. 4. Block Diagram of the proposed system

3.2 제안된 시스템의 고찰

고체 레이저의 광학 부분을 시작한 후 AC 220V 60Hz 1W 스위칭 파워(Switching Power Supply)에 접속한 후 레이저빔을 흑색 타겟(Black Target)에 30분간 조사하였다. 파장측정은 스펙트로포토메터(Spectrophotometer (SF-56)와 모노크로메터(Monochromator(LOMO25))를 사용하여 측정된 파장에 따른 결과는 표 1과 그림 5에 나타내었다. 그림에서 보는바와 같이 광감작제인 HpD의 최대 흡수대역인 608 nm 대역에 레이저빔이 방사됨을 알 수 있다.

Measurement	Section	Measured values	Note
Wavelength		608 nm	No allowable error
Max. Output Power		500 mW	allowable electricity 1W
Min. Output Power		10 mW	

Table 1. Measured values of proposed System

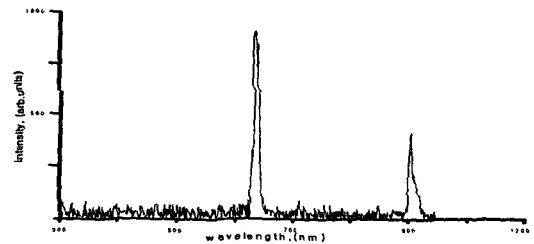


Fig. 5. Characteristic of wave lengths of proposed Laser system

3.3 생체 치료 반응 실험

본 연구에서 실제 제작한 Nd:YAP - Ba(NO₃)₂ - LiF(F₂-) - KTP 레이저를 이용하여 구현한 608 nm의 파장을 선암종이 증식된 2개의 군에 PDT치료를 위해 적용하였다.

선암종(0.1 ml)을 흰쥐 뒷다리 대퇴에 근육주사 후 성장시키고 10 mg/kg의 양의 HpD를 정맥 주사하여 608 nm의 광원에 유효성에 대한 준비를 하였다. 각 다리에 털을 제거한 후 약 21에서 27 시간 동안 608 nm의 레이저를 조사하였으며, 왼쪽 다리는 레이저를 조사시키는 실험 군으로 사용되었다. 이때 실험군과 비교하기 위해 오른쪽다리는 레이저를 조사하지 않았다.

HpD를 주사하지 않은 쥐들은 복합적인 효과(HpD+방사선 조사)를 추정하는 역할을 하였다. 모든 중앙의 크기는 HpD 투약 전 그리고 방사선 조사 후 3, 4일에 측정하였으며, 중앙성장억제비율을 계산하였다.

이 실험적 연구는 모든 고체레이저를 이용한 새로운

레이저 광원의 의학적 적용에 대한 가능성을 보여주었다. 처음 실험에 적용시킬 때, HpD 광증감물질의 장파장 흡수 밴드로 사용되어지는 630 nm와 비교해서 608 nm에서의 파장은 PDT치료에 분광위치 차이로 유효성을 기대하지 않았다. 그러나 608 nm의 파장이 장파장에 비해 위막 및 특히 식도의 암치료에 안전할 수 있다는 결론에 도달하였다. 특히 장막이 없는 식도의 경우 부드러운 조직의 치료에 있어서 깊이 침투하는 파장은 치료 부위를 천공시킬 수도 있다는 위험이 존재한다. 연구의 목표는 광화학 물질 효과와 열 파괴효과를 추정했다. 따라서 종양치료 시 과사되는 조직을 지나지 않는 파장 (예를 들면 608nm)의 선택이 천공을 일으키지 않는 중요한 선택적 요인이 될 수도 있다. 반면에, 고출력의 짧은 펄스를 가진 고체레이저가 단지 사용상의 편리함에 의해 적용되어지는 것만은 아니다. PDT 치료에 중요한 역할을 하는 singlet oxygen 생성에 높은 양자수율로 광화학반응을 유도한다.

에 있어서 고체 레이저를 사용하였을 뿐만 아니라 파장 변환에도 고체소자인 크리스털을 사용함으로써 취급이 간편하고 구조가 소형화되며 소비전력도 적기 때문에 극히 경제적인 PDT용 시스템을 구현할 수가 있다.

개발된 시스템을 이용하여 흰쥐 뒷다리 대퇴에 선암 종을 근육주사 후 성장시키고 10 mg/kg의 양의 HpD를 경맥 주사하여 608 nm의 광원에 유효성에 대한 준비를 하였다. 처음 실험에 적용시킬 때, HpD 광증감물질의 장파장 흡수 밴드로 사용되어지는 630 nm와 비교해서 608 nm에서의 파장은 PDT 치료에 분광위치 차이로 유효성을 기대하지 않았다. 그러나 실험결과 50%에 가까운 암 조직 성장억제결과를 얻었으며, 608 nm의 파장이 장파장에 비해 위막 및 특히 식도의 암 치료에 안전할 수 있다는 결론에 도달하였다. 특히 장막이 없는 식도의 경우 부드러운 조직의 치료에 있어서 깊이 침투하는 파장은 치료부위를 천공시킬 수도 있다는 위험이 존재하여 주 치료용용법위로 생각된다.

참고 문헌

- [1] Hayata, h. kato. C. Konaka, et al.; "Hematoporphyrin derivative and laser photoradiation in the treatment of lung cancer". Chest 1982; 81:269-277.
- [2] LIPSON, R. L., BALDES, E.I. & OLSEN, E. M. "The use of a derivative of hematoporphyrin in tumor detection". f. Natl. Cancer Inst.26:1-12.(1961)
- [3] P. J. Bugelski, C. W. Porter, T. J. Dougherty; "Autoradiographic distribution of hematoporphyrin derivative in normal and tumor tissue of the mouse". Cancer Res. :41(11 Pt 1):4606-12. (1981 Nov)
- [4] N. Van Zandwijk, T. Sutedja, P. Bass, et al.: "An emerging role for photodynamic therapy in lung cancer". (1993)
- [5] R. Ackroyd, C. Kelty, N. BrownY. M. Reed: "The History of Photodetection and photodynamic Therapy". Photochemistry and photobiology Vol.74, No. 5 pp 656-669 (2001)
- [6] J. S. Nelson, W. G. Roberts, J. W. Berns: "In vivo studies on the utilization of mono-L-aspartyl chlorin(NPe6) for photodynamic therapy". Cancer Research, Vol 47, Issue 17 4681-4685 (1987)
- [7] B.W. Henderson, T.J. Dougherty, Photodynamic Therapy: Basic Principles and Clinical Application, New York: Marcel Dekker, (1992)
- [8] H.Pass, Photodynamic therapy in oncology: mechanisms and clinical use, J.Nat. Cancer Inst., 85, p p.443-456, (1993)

Anim No	Irradiation conditions	burn area	Increase in the tumor size, mm ³					
			Left leg (irradiation)		Right leg (control)		Decrease in the tumor growth, %	
			Day 3	Day 4	Day 3	Day 4	Day 3	Day4/7
1-2	Control animal No1 was not irradiated; control animal No2 was used to record the spectrum	-	138. 1±	122. .8±	128. .8±	141. .1±	0	13/14
3	HpD; P starting=500mW, P final=250mW; Φ2cm; t=15 min	0.35	121. 3	112. .7	153. .9	120. .5	21	1/9
4	HpD; P starting=700mW, P final=450mW; Φ1.5cm; t=11 min	-	124. 2	119. .1	165. .2	162. .0	25	27/5
5	HpD; P starting=500mW, P final=350mW; Φ1.5cm; t= 30 min	0.3	84.5	81. 7	115. .8	92. 1	27	11/36
6-7	HpD; P starting=500mW, P final=350mW; Φ5cm; t= 30 min	0.4	100. 6±	61. 3±	132. .9±	133. .6±	25	54/38
		0.9	11.9	9	5.8	6.7		

Table 2. The effect of HPD on the growth of the transplanted Ehrlich adenocarcinoma under conditions of laser light irradiation

4. 결 론

광역화적요법(PDT)이 레이저광과의 상호작용으로 종양조직의 괴사 또는 사멸에 효율성이 높다는 점에 착안하여 종양집적성이 높은 광감수성약제(HpD)를 이용한 PDT용 레이저시스템을 개발하였다. 제안된 시스템에서는 YAG 또는 YAP Rod로 된 고체 레이저를 사용하여 1000 nm 영역의 장파장의 Coherent 광을 발생한 후, 그 출력광을 비선형 특이형 크리스털을 통과시킴으로써 608 nm 영역의 고조파를 생성하였다. 이 시스템은 발진