폐암 세포 증식 억제 멀티모달 시스템 개발

이언진 · 이은지 · 김민경 · 최세운*

금오공과대학교

Development of a multi-stimulation system to suppress proliferation of lung cancer cells

Eonjin Lee · Eunji Lee · Minkyeong Kim · Se-woon Choe*

Kumoh National Institute of Technology

E-mail : djswks7618@kumoh.ac.kr / 20180890@kumoh.ac.kr / 1qqqaa@kumoh.ac.kr / sewoon@kumoh.ac.kr

요 약

본 논문에서는 폐암 세포 증식을 억제하기 위해 멀티모달 시스템 개발에 관한 기본연구를 수행하였다. 광 자극 시스템과 특정한 주파수를 발생시키는 초음파를 이용하여 폐암 세포를 대상으로 자극을 인가하였고, 세포의 증식 억제 효과를 영상화하여 정량적으로 평가하였다. 실험 결과, 초음파와 LED 단일 자극을 인가하였을 때와 동시에 인가하였을 때 폐암 세포의 증식률에서 의미 있는 결과를 보였다.

ABSTRACT

In this study, a basic study on the development of a multi-stimulation system was conducted to suppress lung cancer cell proliferation. Stimulation was applied to lung cancer cells using a photo-stimulating system and ultrasonic waves that generate a specific frequency, and the effect of inhibiting proliferation of cells was imaged and quantitatively evaluated. As a result of the experiment, when a single LED, single ultrasound stimulus were applied and ultrasound and LED stimuli were applied at the same time, meaningful results were shown in the proliferation rate of lung cancer cells.

키워드

Lung cancer cell, Light-emitting diode, Ultrasound, Image processing

Ⅰ. 서 론

폐암은 재발이나 전이가 많고 완치율이 낮아서 다른 암에 비해 사망률이 높다. 그러므로 폐암 치료가 끝났다 해도 재발과 새로운 암의 발생을 예방하고 치료 부작용을 극복하기 위한 추후 관리가 매우 중요하다[1]. 또한, 폐암 수술 후 만성 감염성 폐질환 발생률이 높은 편이며 방사선치료나 항암치료, 수술 후 1달 이내 폐 관련 합병증 발생이 위험인자로 판단된다[2]. 이를 방지하고자, 최근에는 부작용이 없는 방법으로 초음파치료, 정상 세포에 영향을 주지 않는 방법으로 광 역학 치료가 제안되고 있다[3]. 실제로 유방암, 대장암 등 다양한 암세포를 대상으로 Blue 파장대의 LED(Light-Emitting Diod)와 초음파를 이용한 암세포 증식 억제 관련 연구가 이뤄지고 있다[4-6].

따라서 본 눈문에서는, 상용화된 BLUE 파장대의 LED와 초음파를 폐암세포에 인가하는 멀티모달 자극 시스템을 개발하고, 폐암세포 증식억제 효과의 유무를 확인하고자 한다. 광 자극과 초음파 자극의 단독인가와 동시인가 실험을 진행한 후, 현미경을 통해 얻은 이미지를 영상처리 및 통계분석을 통해 유의미한 차이를 보이고자 한다.

* corresponding author

II. 실험 방법

2.1 세포 배양

사용된 폐암세포는 NCI-H1299 (한국 세포주 은행, 대한민국)를 사용하였고, DMDM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)과 10%의 FBS (Fetal Bovine Serum, pH 7.4), 1%의 Penicillin Streptomycin으로 구성된 배지 용액을 사용하여 37°C와 5%의 이산화탄소를 포함한 환경인 세포배양기에서 증식시켰다. 폐암세포를 6 Well plate 4개에 4×104cells/well로 분주하고, 배양 후 24시간이 지나고 실험을 진행하였다. 외부 자극이 인가되는 날을 Day1으로 설정하였다.

2.2 광 자극 시스템

광 자극 시스템은 LED 광 자극의 효과를 확인하기 위해서 암세포 억제에 주로 사용되고 있는 LED [Blue(415nm)] 파장을 사용하였다. 광 자극 실험에 사용된 LED 파장을 광 스펙트럼 분석기로 측정한 결과, Blue 발광 파장영역은 405-425nm로 나타났다. 또한, 3D 프린터를 사용하여 광 자극 실험용 지지대를 맞춤 제작하였으며 LED 장치와 well plate를 고정할 수 있도록 하였다. 각 well마다 하루 1번씩 30분간 광 자극을 인가하였으며, 총 5일간 실험을 진행하였다.

2.3 초음파 자극 시스템

초음파는 function generator에서 1MHz (frequency), 190mVpp(amplitude), 1,000 cycle의 파형을 갖는 주파수를 발생시켜 power supply에서 전원을 공급하여 자극을 주었으며, well 중앙에 자극을 줄 수 있도록 사각 스탠드 지지대를 이용하여 자극인가 위치를 고정하였다. 각 well마다 하루 1번씩 30분간 초음파 자극을 인가하였으며, 총 5일간 실험을 진행하였다.

2.4 멀티모달 자극 시스템

실험을 위해 폐암세포를 배양한 후, 6 well plate 4개에 분주하고 자극 인가 실험 전 24시간 동안 배양하였다. 세포 증식 억제 효과의 비교를 위해 LED 자극만 인가한 실험군 (n=6), 초음파 자극만 인가한 실험군 (n=6), 초음파와 LED 자극을 동시에 인가한 실험군 (n=6)과 자극을 주지 않은 대조군 (n=6)으로 분류한 뒤 실험하였다. 광학 가이드에 맞추어 LED를 설치하고, 그 위에 세포 배양 플라스크를 놓고 스탠드 지지대로 고정한 초음파 프로브를 배지에 닿게 하여 자극인가가 가능하도록 진행하였다. 각 well마다 하루 1번씩 30분간 멀티모달 자극을 인가하였으며, 총 5일간 실험을 진행하였다.

2.5 영상처리 및 정량분석

세포 이미지는 매일 자극 인가 전 역상 광학 현미경(Inverted fluorescent microscope, IX73, Olympus, Japan)을 이용하여 촬영하였다. 그림4와 같이 3D 프린터를 사용해 만든 모형으로 동일한 위치에서의 이미지를 획득함으로써 정량분석이 가능하도록 하였다. 현미경으로 획득한 세포 이미지들은 MATLAB (MathWorks, Natick, MA, USA)을 이용하여 분석하였다. 세포 배양 플라스크의 면적과 비교하여 세포의 밀도 단위로 (%) 평균 증가분을 비교 분석하였다.

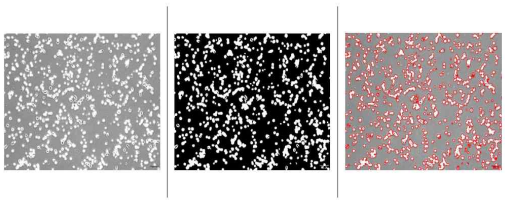

그림 1. MATLAB 이미지 처리

III. 실험 결과

자극을 주지 않은 대조군 샘플군, LED 및 초음파 단일 자극만을 준 샘플군과 LED와 초음파 자극을 함께 준 멀티 모달 자극 샘플군을 구별하여 실험을 진행하였다. 실험군과 대조군 샘플을 날짜와 인가한 자극을 기준으로 비교하였으며, 자극이 없는 대조군에 비해 단일 자극 또는 멀티모달 자극을 인가한 실험군이 모두 세포 증식 억제가 활발하게 진행되었음을 확인할 수 있었다. 그중에서도 초음파와 Blue LED 자극이 동시에 인가된 멀티 모달 자극 실험군에서 세포 증식억제가 가장 활발하게 진행되었다. Blue LED 단일 자극만 인가한 실험군이 초음파 단일 자극만 인가한 실험군에 비해서 세포 증식 억제가 높았다.

IV. 결 론

본 연구에서는 상용화된 광 자극 시스템과 초음파를 이용하여 폐암세포의 증식 억제에 효과가 있는지 확인하였다. 초음파와 LED 단일 자극뿐만 아니라, 초음파와 LED 자극을 동시에 인가한 멀티모달 실험을 진행한 후 그 효과를 현미경에서 얻어진 세포 이미지를 통해 확인하였다. 그 결과, Blue LED와 1MHz의 초음파 자극을 동시에 인가한 복합 멀티모달 자극이 폐암세포 증식 억제가 가장 효과가 높은 것으로 나타났다. 따라서 이러한 광

자극과 초음파 자극을 이용한 복합 멀티모달 자극이 폐암 세포의 증식 억제에 탁월한 효과를 보였으며, 또한 이러한 증식 억제는 폐암 치료에 적용이 가능할 수 있을 것이라 기대된다.

Acknowledgement

이 논문은 2020년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임 (NRF-2019R1F1A1062397). 본 논문은 4단계 BK21 사업(금오공과대학교 IT융복합학공학과)에 의하여 지원되었음.

References

[1] J. Kang, K. Lee and H. Kim, “Accumulated incidence and risk factors of chronic infectious lung disease after lung cancer surgery” *The Korean Academy of Tuberculosis and Respiratory Diseases,* Vol. 126, pp. 178-178, 2018

[2] S. H. Kim, J.H. Lee, E.Y. Choi, S.T. Jeon, M.Y. Choi, S.H. Jo and S. Choe, “Automatic cell image classification with convolutional neural networks,” *The Transactions of the Korean Institute of Electrical Engineers*. Vol. 70, No. 1, 139-144, Jan. 2021.

[3] G. Ayana, K. Dese and S. Choe, “Transfer Learning in Breast Cancer Diagnoses via Ultrasound Imaging,” *Cancers*, Vol. 13, No. 4, 738, Feb. 2021.

[4] K. Cho and S. Choe, “LED를 활용한 저가의 암세포 증식제어 모듈 개발 및 효과,” *한국정보통신학회논문지*, Vol. 22, No. 9, pp. 1237-1242, Sep. 2018.

[5] K. Cho, J.-h. Seo, G. Heo and S. Choe, “An Alternative Approach to Detecting Cancer Cells by Multi-Directional Fluorescence Detection System Using Cost-Effective LED and Photodiode,” *Sensors,* Vol. 19, No. 10, pp. 2301, May 2019

[6] Kamanlı A.F., Yıldız M.Z., Özyol E., et al, “Investigation of LED-based photodynamic therapy efficiency on breast cancer cells.” Lasers Med Sci, Vol. 36, pp. 563-569, Jun. 2020