

## 레이저 다이오드를 이용한 고형암 치료를 위한 간질성 광역학 치료법 개발

대구가톨릭대학교 의과대학 진단방사선학교실, 의공학교실

김 기 흥 · 김 종 기

암치료에 사용되고 있는 광역학 치료는 환자에게 광민감제를 투여하고 다이오드 레이저(630 nm)를 조사하여 생성되는 단일상태 산소와 자유 라디칼에 의해 암조직을 괴사시키는 치료방법이다. 현재 광역학 치료의 문제점은 부피가 큰 종양이나 고형암에서는 빛이 종양전체를 투과할 수 없으므로 광역학 치료의 효과가 떨어지는 것이다. 따라서 이 문제를 해결하기 위하여 간질성 광역학 치료법을 개발하고자 한다. 생체조직내의 정확한 광선량 측정이 간질성광역학치료의 효과에 매우 중요한 영향을 주므로, 실험 연구에 사용된 계수는 실제 생체조직의 광학 계수이다. 생체조직 대부분은 가시광선영역에서 큰 산란계수를 가지며, 투과 깊이에 많은 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 가시영역에서의 인체조직의 투과깊이는 약 15~20 mm이었다. 몬테카를로 시뮬레이션(Monte Carlo simulation)을 이용하여 생체조직내의 광전파, 광선량, 에너지율, 투과깊이를 잘 측정할 수 있음을 알았다. 그리고 이 시뮬레이션 결과를 가지고 고형암에 간질성 광역학 치료를 하여 치료효과를 확인하였다.

중심단어: 간질성 광역학 치료, 광민감제, Photogem

### 서 론

최근 광역학 치료(photodynamic therapy; PDT) 방법이 종양치료에 많이 이용되고 있는데, 1980년대부터 본격적으로 연구되어 1990년대 들어 캐나다, 독일, 일본 등에서 임상시술이 승인된 이래 미국의 FDA에서 1996년 1월에 식도암 치료허가를 내주었고, 1997년 9월에는 초기 폐암치료에 대해 승인하였다. 광역학 치료의 원리는 인체 내에 주입된 광민감제와 외부에서 조사되는 가시광 레이저 빛과 체내에 있는 산소간의 화학반응에 의해 생성되는 단일상태 산소(singlet oxygen)와 자유 라디칼(free radical)에 의해 종양세포를 파괴하는 것이다.

광역학 치료의 장점은 정상조직을 보존하면서 암 조직만 선별적으로 제거할 수 있어, 치료에 있어서 전신마취의 위험성을 배제할 수 있고, 간단한 국소 마취만으로 치료를 할 수 있기 때문에 시술이 용이하다.<sup>1-7)</sup> 따라서 치료 후 회복

이 빠르고 환자의 기능적, 미용적 결함을 최소화할 수 있어 삶의 질을 높일 수 있다. 그리고 국가 간 치료시술법에는 큰 차이가 없으므로 광역학 치료 성적은 시술법보다는 사용된 광민감제, 시술상의 방법, 광원(레이저) 및 조사방법 차이와 환자병력 등에 의해 좌우된다. 그리고 인체조직의 파장별 광 흡수도를 알아보면 파장 600~1,000 nm 사이의 광은 조직구성분의 낮은 흡수도 때문에 대부분의 인체 조직에서 최고의 투과력을 갖고 세포기관에 의해서 상대적으로 비효율적으로 산란된다.<sup>8)</sup> 짧은 파장의 광자는 혈액의 헤모글로빈에 의해 주로 흡수되고, 반면에 긴 파장의 광자는 물에 의해 흡수된다. 생체조직 흡수에 관한 자료는 광역학 치료에 매우 중요하다. 광민감제의 고 흡광도 계수(high extinction coefficients)는 광역학 치료 시 광민감제의 최적 농도를 평가할 때 고려되어야 하고, 농도가 증가하면 조직에서 빛의 투과 깊이가 눈에 보이게 감소되는 가리기 효과(screening effect)가 있다. 그리고 가시광 영역에의 흡수 스펙트럼에 의해, 혈액 헤모글로빈의 산소화 정도를 평가할 수 있다. 이는 조직에서 산소 소모 정도를 반영해주고, 산소 소모 정도는 단일상태 산소로의 전이와 부가적인 조직 요소의 산소화에 의해 수반되는 들뜬 상태의 광민감제 분자와 산소의 상호작용에 의해 광역학 치료 과정에서 생체 조직에 레이저 조사시간이 길어질수록 혈액의 산소화 정도가 감소함을 볼 수 있다. 이러한 효과는 광역학 치료 과정

이 논문을 2002년도 학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-200-037-C00013).

이 논문은 2005년 5월 4일 접수하여 2005년 6월 17일 채택되었음.

책임저자 : 김기흥, (705-718) 대구 남구 대명4동  
대구가톨릭의과대학 의공학교실, 방사선학교실  
Tel: 053)650-4498, Fax: 053)650-4335  
E-mail: pdt@korea.com

에서 종양조직의 치료 효율을 평가하는데 도입될 수 있다.<sup>9-18)</sup> 그리고 광역학 치료에 사용되는 광민감제의 고흡광도 파장대와 생체조직에서 고투과도를 가지는 630 nm 파장과, 1 W 이상의 출력을 가지는 레이저를 살펴보면 Argon-pumped 염료레이저<sup>19)</sup>, KTP-pumped 염료레이저,<sup>20)</sup> 금증기 레이저(gold vapor laser)<sup>21)</sup> 그리고 최근에 개발된 다이오드 레이저 등<sup>22)</sup>이 있다. 이 레이저들은 동일한 파장이지만 출력 형태의 차이로 특성이 다르고, 조사시 세포와의 상호작용도 다르다. 펄스파를 출력하는 염료 레이저와 금증기 레이저는 광역학 치료에 많이 사용되어 임상적으로 유효성이 입증되었지만,<sup>19-21)</sup> 연속파를 출력하는 고풍출력 다이오드 레이저는 최근에 개발되어 종양 조직의 레이저 빛의 세기, 조사시간과 주기성(치료 빈도 및 회수)에 따른 광역학 치료 효율에 대한 연구는 아주 미미한 실정이다. 그리고 현재 사용중인 광역학 치료의 근본적인 문제점은 부피가 큰 점막 속 암이나 고형암의 경우 레이저광이 암까지 투과되지 않으므로 사용이 불가능하다는 것이다. 그러나 아직까지도 이에 대한 연구가 많이 이루어지지 않고 있다. 따라서 광섬유(cylindrical diffuser optical catheter)를 종양조직 내에 삽입하여 레이저가 조직 안으로 잘 퍼지게 하여 치료 효과를 높이고자 한다. 그리고 레이저 광조사에 따른 정상조직(normal tissue)의 열 손상을 최대한 입지 않도록 하여야 한다. 이를 위해 레이저 다이오드 광의 생체조직에 대한 흡수, 투과 그리고 산란계수 등에 따른 생체 조직의 광 분포도를 작성함으로써 간질성 광역학 치료(interstitial photodynamic therapy)의 효과를 높이고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 광민감제(photosensitizer)로 Photogem

(Photogem, Moscow, Russia)을 사용하였으며, 6주 된 C57BL/6마우스를 사용하였고, 자외선으로 멸균된 사료와 멸균수

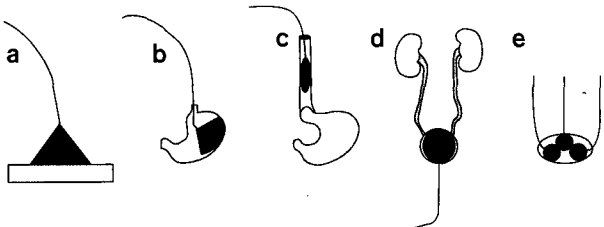


Fig. 1. Various light application mode for PDT. (a) Superficial (microlens), (b) Intracavitary, (c) Intraluminal superficial, (d) Intracavitary superficial (e) interstitial.

를 공급하여 사육하였다. TC-1 세포수를  $10^7$ 개/0.1 ml로 만들어 28G insulin 주사기로 마우스의 피하에 주입하였다. 주입 후 일주일 후면 종양의 성장이 관찰되고, 마우스의 광민감제 투여는 종양의 크기가 약  $200 \text{ mm}^3$ 에 도달하였을 때 photogem을 1 mg/ml의 농도로 무균 등장액에 용해시켜, 마우스 꼬리 동맥에 5 mg/kg b.w.의 투여량으로 투여하였다. 광역학 진단(photodynamic diagnosis)은 SPECTR-CLUSTER 형광분광기(Cluster Ltd., Moscow, Russia)를 사용하여 광민감제의 축적 농도를 측정하였다. 그리고 생체조직의 광흡수는 흡수분광기(OceanOptics Co., USA)를 사용하여 측정하였다. 그리고 생체조직의 광투과도를 알아보기 위하여 동물의 지방(fatty)과 근육(muscular)질의 생체조직을 육면체로 자른 후, 광섬유(cylindrical diffuser optical catheter)를 생체조직 내에 삽입시켰다. 이 광섬유와 생체조직 외벽과의 거리는 5, 10, 15, 20 mm로 하여 광선량을 광도계(photometer, Levedeva Ltd., Russia)를 사용하여 측정하였다. 그리고 Fig. 1과 같이 광역학 치료를 위한 여러 가지의 레이저 조사 방법이 있다. 여기서 고형암에 효과가 있는 간질성 광역학 치료에는 다이오드 레이저인 630 nm 파장의 레이저(BioLitec Co., Germany)를 사용하여 Fig. 2와 같이  $400 \text{ mW/cm}^2$ , 250 sec로 간질성 광역학 치료를 실시하였다.

## 결 과

종양조직과 정상조직을 구별하기 위하여 Photogem을 투여 24시간 후 CLUSTER 시스템을 사용하여 형광 스펙트럼

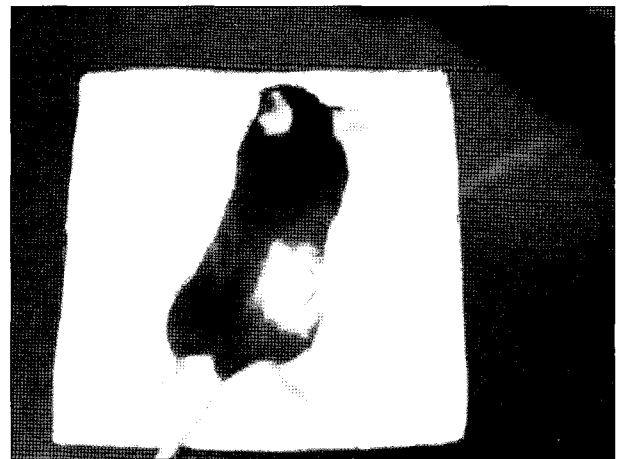


Fig. 2. Interstitial photodynamic therapy showed diode laser irradiation.

(fluorescence spectrum)를 측정하였다. Fig. 3은 측정된 형광 스펙트럼을 보여 준다. 이 시스템의 형광스펙트럼은 실시간 PC 모니터에 나타나며, 532 nm, 30 mW의 파장으로 조직을 여기(excitation)시 정상조직과 종양조직의 진단 형광 세기( $D_f$ )는 다음과 같은 식 나타낼 수 있다.<sup>23)</sup>

$$D_f = \frac{I_{(620-650)}}{I_{(550-580)}}$$

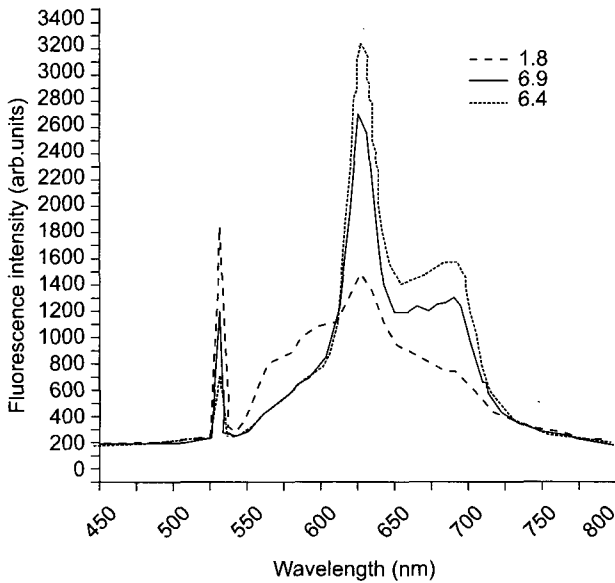


Fig. 3. Fluorescence spectra of normal tissue and tumor tissue under 532 nm excitation 24 h after tail vein injection of photogem ( $D_f=6.4, 6.9$  tumor tissue,  $D_f=1.8$  normal tissue).

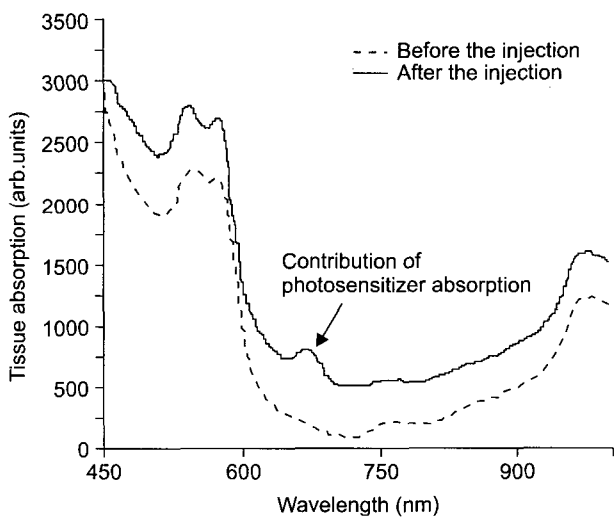


Fig. 4. Absorption spectrum of tissue before and after the injection of Photogem photosensitizer.

여기서 620~650 nm와 550~580 nm는 종양조직에서 각각 형광분광기 파장안의 종양조직에 축적된 photogem 형광과 자가형광(autofluorescence)의 전체 세기(integral intensity)이다. 이 방법으로 종양조직과 정상조직을 진단할 수 있다. 이 실험을 통하여  $D_f$ 를 측정된 결과, 정상조직은 평균 2 이하의 값이고, 종양조직은 약 3 이상의 값을 보여 주었다.

Fig. 4는 광민감제를 투여 전·후의 생체조직 흡수 스펙트럼이며, 광민감제 투여 후의 스펙트럼을 보면 흡수대가 630 nm 근방이라는 것을 알 수가 있다. 따라서 간질성 광

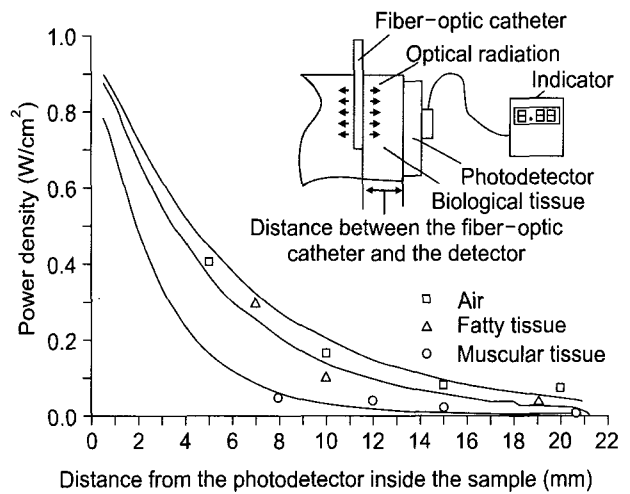


Fig. 5. Distribution of the power density of laser radiation inside a sample of biological tissue.

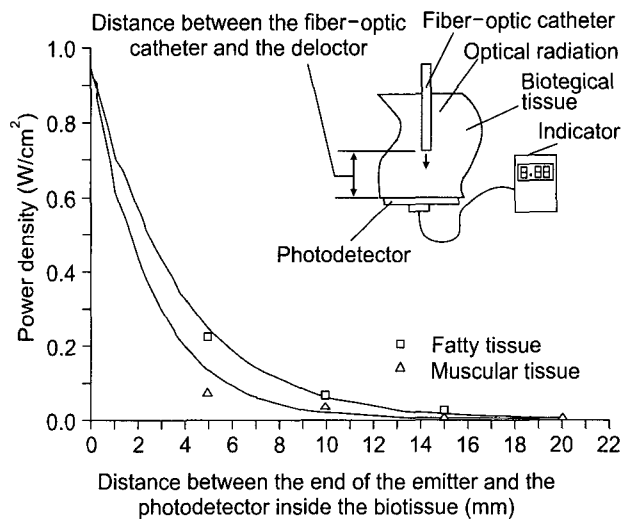


Fig. 6. Distribution of the power density of laser radiation inside a sample of biological tissue.

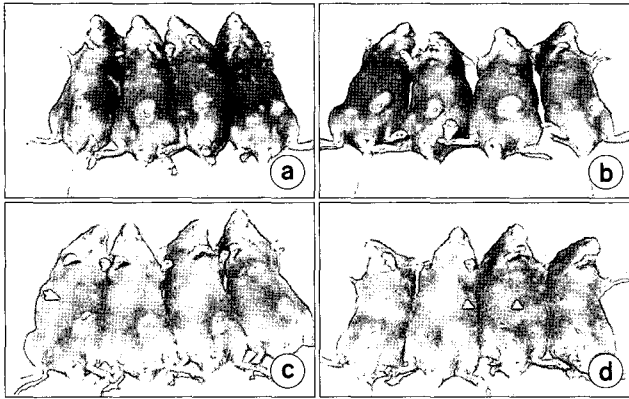


Fig. 7. TC-1 cell injected tumor response to PDT. (a) Control, (b) Photogem+No Irradiation, (c) No Photogem+Irradiation, (d) 5 mg/ kg B.W.+Irradiation).

역학 치료에 사용한 다이오드 레이저광은 630 nm 파장의 적색광을 사용하는 것이 가장 효율적이며, 이 파장에서의 생체조직의 광 특성을 알아야 하며, 조직 내의 광선량(light dosimetry)을 정확히 측정하여야 한다. 이를 알아보기 위하여 동물의 지방과 근육 생체조직을 사용하여 레이저 다이오드 조사에 따른 광선량 분포 결과를 Fig. 5와 6에 나타내었다.

생체조직의 두께가 두꺼워질수록 광 흡수와 산란으로 광 선량이 줄어든다는 것을 볼 수 있다. 광역학 치료 과정에서 레이저광의 높은 광선량을 생체조직 표면으로부터 투과 깊이를 높이는 것이 문제이다. 따라서 생체조직에서의 광 특성을 조사하고 광선량을 몬테칼로 시뮬레이션 방법<sup>24,25)</sup>을 사용하여 피팅한 결과를 Fig. 5와 6에서 실선으로 나타내었다. 이때 생체조직의 광학계수들 중에서 생체조직 내의 광 전파에 영향을 크게 미치는 흡수계수(absorption coefficient;  $\mu_a$ ), 산란계수(scattering coefficient;  $\mu_s$ ), 이방성 산란계수(anisotropic coefficient; g)임을 확인할 수 있었다. 흡수계수는 광자의 흡수에 주로 영향을 끼치는 것으로 흡수계수가 높은 생체조직에서는 생체조직표면에서 높은 에너지 율이 나타났고, 이에 따른 광 투과깊이는 줄어들었다. 흡수계수가 낮은 조직에서는 비록 에너지율은 낮게 나타났으나 투과깊이는 높게 나타났다. 산란계수는 입자와 상호작용하는 광자의 산란확률을 나타내는 파라미터로서 가시광선영역에서 생체조직의 산란계수는 매우 큰 것으로 밝혀졌다. 산란계수는 투과깊이에 주로 영향을 주는 인자로 산란계수가 작으면 투과 깊이는 높아지고 산란계수가 크면 투과 깊이가 작아진다. 이바서 산란계수  $g$ 는 파사라(light scattering)의 각의존성(angular dependency)을 나타내는

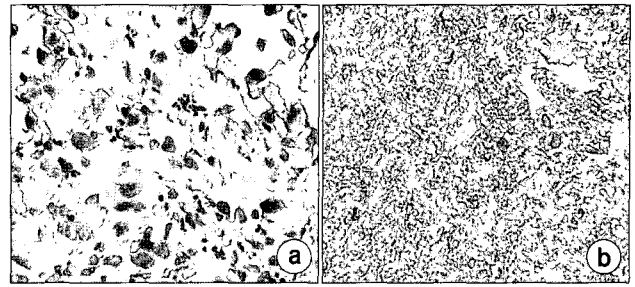


Fig. 8. Tumor tissue showed after PDT with photogem (a) PDT before, (b) PDT after).

파라미터로 산란각의 평균 코사인(average cosine of scattering angle)으로도 정의된다.  $g$ 값이 클수록 투과깊이는 깊게 나타났으며,  $g$ 가 작을수록 조직표면에서의 에너지율은 보다 크게 관측되었다. 이 결과는 간질성광역학치료에서 사용하는 630 nm 파장인 적색파장은 생체조직의 구성입자에 의해서 거의 흡수되지 않기 때문에 최고 15~20 mm까지 투과해 들어갈 수 있음을 확인할 수 있었다. 흡수계수가 작을수록, 산란계수와 이방성 산란계수  $g$ 값이 클수록 투과 깊이는 높아지고, 조직 표면에서의 에너지 율은 흡수계수가 클수록, 산란계수가 작을수록, 이방성 산란계수  $g$ 가 0에 가까울수록 더 크게 나타남을 이 몬테칼로 시뮬레이션 방법으로 알 수 있었다.

몬테칼로 시뮬레이션 방법을 고려하여 최적의 간질성 광역학 치료법으로 Fig. 7에서와 같이 실험 군을 4가지로 구분하여 간질성 광역학 치료 효과를 관찰하였다. 간질성 광역학 치료를 위하여 광민감제만 투여하거나 레이저 다이오드만 조사한 실험군의 경우는 종양의 크기감소는 관측할 수 없었다. 광민감제와 다이오드 레이저 조사를 함께 한 경우는 종양의 퇴행(regression)을 보여주었다.

그리고 Fig. 8은 광민감제와 레이저 다이오드 조사 전과 조사 1주일 후의 조직을 떼어내어 Hematoxylin & Eosin 염색을 수행하였다.

정상조직에 비해 암조직은 표피세포층이 얇아지는 소견을 나타내었으며, 또한 세포들이 대부분 비정형을 나타내었다. 완치된 조직은 정상 세포와 유사하며, 이는 Masataka 등<sup>26)</sup>이 연구한 내용과 잘 일치하였다.

## 결 론

레이저 다이오드(630 nm)를 이용한 간질성광역학치료를

위하여 광전파 모델에 관한 연구를 한 결과, 조직에서의 광학계수 중에서 흡수 계수를 측정함으로써 생체조직의 생화학적인 성분 및 내부 구조를 간접적으로 유추하는데 유용한 도구로 사용할 수 있으며, 생체조직의 흡수계수의 변화를 측정하여 질병진단에도 이용할 수 있다. 특히 생체조직에서 광역학 치료에 사용한 630 nm 파장대는 생체조직에 의해서는 거의 흡수가 되지 않기 때문에 이 실험에서 최고 15~20 mm까지 투과해 들어갈 수 있음을 확인할 수 있었다. 그리고 광민감제인 photogem과 레이저 다이오드(630 nm)를 사용하여 400 mW/cm<sup>2</sup>, 250 sec로 간질성 광역학 치료를 실시한 결과, 레이저 조사 후 3일부터 종양부위가 변하기 시작하여 1주일 후 종양조직을 떼어내어 조직검사를 실시한 결과, 성공적인 치료 효과를 보여주었다. 이 연구 결과를 바탕으로 간질성 광역학 치료 방법으로 내시경을 사용하여 다양한 고형암에 대하여 치료방법을 개발할 수 있기를 기대한다.

### 참 고 문 헌

1. Colin H: Photodynamic therapy. *The Lancet Oncology* 1: 212-219 (2000)
2. Zhengwen X, Yahya T, Kevin B, et al: Interstitial photodynamic therapy in subcutaneously implanted urologic tumors in rats after intravenous administration of 5-aminolevulinic acid. *Urologic Oncology* 7:125-132 (2002)
3. Wesley MS, Johan EL, Cynthia, MA: Targeted photodynamic therapy via receptor mediated delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews* 6:53-76 (2004)
4. Brian WM, Thomas SM, Jonathan SD: The effects of oxygenation and photosensitizer substrate binding on the use of fluorescence photobleaching as a dose metric for photodynamic therapy. *Vibrational Spectroscopy* 28:25-35 (2004)
5. Emma SN, Paavo HH: Research advances in the use of tetrapyrrolic photosensitizers for photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 73:1-28 (2004).
6. Annelies SL, Derydecke AM, Peter AM: Liposomes for photodynamic therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews* 56: 17-30 (2004).
7. Fiona S, Paul B, Willem S: What does photodynamic therapy have to offer radiation oncologists (or their cancer patients). *Radiotherapy and Oncology* 48:233-248 (1998)
8. Tuchin V: Tissue optics. *Tutorial Texts in Optical Engineering* Vol. TT38, (2000).
9. Stewart R, Kar H, Norris T, et al: Microspectrophotometric measurement of pH and pH effect on color of petal epidermal cells. *Photochem* 14: 937-942 (1975)
10. Tuitou E, Meidan V, Horwitz E: Methods for quantitative determination of drug localized in the skin. *J of Controlled Release* 56:17-21 (1998)
11. Foldvari M, Oguejifor C, Wilson T, et al: Transcutaneous delivery of prostaglandin E1; In vitro and laser doppler flowmetry study. *J Pharm Sci* 87:721-725 (1998)
12. Tuchin V, Bashkatov A, Sinichkin Y, et al: In vivo investigation of the immersion-liquid-induced human skin clearing dynamics. *Technical Physics Letters* 27:489-490 (2001)
13. Dawson J, Barker D, Ellis D: A theoretical and experimental study of light absorption and scattering by in vivo skin. *J Phys Med Biol* 25: 695-709 (1980)
14. Sinichkin Y, Utz S: In vivo reflectance and fluorescence spectroscopy of the human skin. *Saratov Univ Press*, 2001
15. Juzenas P, Sharfaei S, Moan J: Protoporphyrin IX fluorescence kinetics in UV-induced tumours and normal skin of hairless mice after topical application of 5-aminolevulinic acid methyl ester. *J Photochem Photobiol B: Biology* 67:11-17 (2002)
16. Casas A, Fukuda H, Meiss R: Topical and intratumoral photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid in a subcutaneous murine mammary adenocarcinoma. *Cancer Letters* 141:29-38 (1999)
17. Petras J, Asta J, Silje S, et al: Photosensitizing effect of protoporphyrin IX in pigmented melanoma of mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 297:468-472 (2002).
18. Stratonnikov A, Douplik A, Klimov D, et al: The absorption spectroscopy as a tool to control blood oxygen saturation during photodynamic therapy. *SPIE Proceedings* 3191:58-66 (1997)
19. Aleksander SA, Aleksandra KK, Mariusz Adamek WM, et al: Photodynamic therapy (PDT) using topically applied  $\delta$ -aminolevulinic acid (ALA) for the treatment of malignant skin tumors. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 1:311-317 (2004).
20. Carson DL, David K, Romaine ES, et al: Hypericin and photodynamic therapy decreases human pancreatic cancer in vitro and in vivo. *J Surgical Research* 93:137-143 (2000)
21. Mikvy P, Messmann H, Debinski H, et al: Photodynamic therapy for polyps in familial adenomatous polyposi. *European Journal of Cancer* 31:1160-1165 (1995)
22. Veronika M, Alfred M, Oliver S, et al: Photodynamic therapy enhanced by hyperbaric oxygenation in palliation of malignant pleural mesothelioma. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 1:57-65 (2004).
23. Melo CAS, Kurachi C, Grecco C: Pharmacokinetics of photogem using fluorescence monitoring in Wistar rats. *Journal of Photochemistry and Photobiology B73*:183-188 (1998)
24. Report: Monte Carlo Modeling of Light transport in Multilayered Tissues in Standard C: University of Texas M D Anderson Cancr, Lihong W, Steven LJ (1992)
25. Prah SA, Keijzer M, Jacques SL: A monte carlo model of light propagation in tissue. *SPIE Institute Series IS5*:102-111 (1989)
26. Masataka U, Joji S, Zuolin W, et al: Morphometric analysis of mouse tumor nuclei subjected to photodynamic therapy. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 63:244-246 (2005)

## **Interstitial Photodynamic Therapy (PDT) Set-up for Treating Solid Tumor Using Laser Diode**

Ki-Hong Kim, Jong-Ki Kim

Departments of Biomedical Engineering & Radiology, School of Medicine,  
Catholic University of Daegu, Korea

Photodynamic therapy (PDT) is one of the expectable current cure operation methods. Tumor tissue is treated by abundant oxygen in a body and generated singlet or free radical from exterior laser diode and photosensitizer. Current problem of PDT is the low penetration power of the light beam in a deep seated large tumor and solid tumor thus results in low treatment outcome. In the study, we tried to develop interstitial photodynamics therapy treatment to solve this problem. As the accurate determination of light dosimetry in biological tissue is one of the most important factors affecting the effectiveness of PDT, parameters used in this study are the optical property of biological tissue. Since biological tissues have large scattering coefficient to visible light the penetration depth of a biological tissue in visible light region is only 15~20 mm. We showed that it is possible to measure fluence rate and penetration depth within the biological tissues by Monte Carlo simulation very well. Based on the MC simulation study, the effectiveness of interstitial photodynamic therapy on tumor control in solid tumor was proved through in vivo animal experiment.

---

**Key Words** : Photogem, Interstitial photodynamic therapy, Photosensitizer