특 집

Biomimetic 미네랄리제이션 기술을 이용한 질병 진단/치료용 지능형 나노전달체

이홍재 · 이상천

1. 서론

최근, 우수한 전달 효율을 갖는 지능형 나노전달체가 성공적인 질병 진단 및 치료를 위한 필수적인 요소로 인식되고 있다. 특히, 고분자 마이셀 및 나노입자가 주축이 되는 나노전달시스템에 대한 주요 연구 동향 중 하나는 기존 전달체의 전달 효율을 극대화 시키는데 있다.[1,2] 약물, 유전자, 단백질, 영상 probe 등을 표적 조직에 성공적으로 전달하기 위해 나노전달체는 다음의 세 가지 기능을 충족시킬 수 있도록 디자인 되는 것이 중요하다. 첫째, 정맥주사를 통한 인체 투여 후 구조적인 강건성을 지내여 하며, 둘째, 표적조직에 도달하기 전에 혈류 내에서는 방출이 억제되어야 하며, 셋째, EPR(enhanced permeation and retention) 작용에 의한 표적화 후 방출을 촉진할 수 있어야 한다. 최근 pH, redox 반응에 감응하여 구조가 붕괴되는 가교제를 이용하여 위 세 가지 기능이 장착된 고분자 나노입자에 대한 연구가 보고된 바 있다. 전달효율 측면에서 의미 있는 연구결과가 보고되고 있지만, 유기 가교제를 사용하므로 나노입자의 화학적 구조가 변질되며 또한 체내에서 분해시 독성 부산물을 발생할 수 있다는 단점이 있다. 따라서, 독성이 없으며 위 세 가지 기능을 만족시키는 나노전달체의 개발이 중요한 이슈라고 할 수 있다.

바이오미네랄리제이션(biomineralization)은 유기체가 자가 조직을 강건하게 하기 위해 인산칼슘(calcium phosphate), 탄산칼슘(calcium carbonate), 실리카(silica)등의 미네랄을 형성하는 과정으로 인체의 뼈 및 치아 조직을 형성하는 과정에서 중요한 역할을 하는 등 발생학적으로 매우 중요한 천연 프로세스이다.[3] 최근 들어, 인산칼슘 및 탄산칼슘 등의 미네랄의 용해속도가 pH에 의존하며, 혈액 pH에서는 구조가 안정하게 유지되고 세포 내 엔도좀(endosome, pH ~5.0) 및 라이소좀(lysosome, pH~4.0) pH에서 이온으로 용해된다는 특성을 이용한 나노전달체의 개발이 중요한 이슈로 떠오르고 있다.[4,5]

본 총설에서는 biomimetic 미네랄리제이션 기술이 도입된 지능형 나노전달체에 대한 연구동향을 소개하고자 한다. 먼저 자연계에 존재하는 바이오미네랄리제이션으로 형성된 하이브리드 복합체에 대해 소개한 후, 합성 유기물, 고분자 및 고분자 구조체를 이용한 인공 바이오미네랄리제이션 기술에 대해 기술하고자 한다. 특히, 질병 진단 및 치료를 위한 약물 및 유전자 전달용 나노전달체 기술개발을 중심으로 살펴보고자 한다.

2. 바이오미네랄리제이션(Biomineralization)

2.1 천연 바이오미네랄리제이션

자연계에서 형성되는 유기체들은 뼈, 치아, 규조, 조개껍질과 같은 고분자-무기 하이브리드 복합체를 바이오미네랄리제이션 과정을 통해 형성한다. 바이오미네랄리제이션을 설명하는 대표적인 예로 전복껍질의 구조를 들 수 있다. **그림 1**에 나타낸 바와 같이 전복 껍질의 내외 구조는 탄산칼슘($CaCO_3$)과 결정간에 존재하는 천연유기물인 단백질로 구성되어 있다.[6] 이 껍질 구조는 바이오미네랄리제이션 과정을 통해서 형성되는데, 유기 템플레이트는 "silk-like" glycine-rich 단백질과 alanine-rich 단백질 사이의 키틴층으로 구성되어있고, 템플레이트의 외부표면은 친수성을 가진 poly(aspartic acid) 산성 거대분자로 코팅되어 있다. Poly(aspartic acid) 음이온성 표면에 양이온성 Ca^{2+} 이온이 결합되고 연속적으로 CO_3^{2-} 이온의 결합에 의해 탄산칼슘 미네랄의 결정화가 이루어지게 된다.

이홍재

2002 수원대학교 화학공학과(학사)
2004 연세대학교 화학공학과(석사)
2004~2005 (주)에코웰 연구원
2005~2009 한국세라믹기술원 나노소재응용본부 연구원
2009~현재 경희대학교 치의학전문대학원 악안면생체공학과 연구원

이상천

1995 인하대학교 고분자공학과(학사)
1997 인하대학교 고분자공학과(석사)
2001 인하대학교 고분자공학과(박사)
2001~2003 Purdue Univ., School of Pharmacy (Post-Doc.)
2004 Japan Advanced Institute of Sci. & Tech., School of Materials Science (Post-Doc.)
2004~2009 한국세라믹기술원 나노소재응용본부 선임연구원
2009~현재 경희대학교 치의학전문대학원 악안면생체공학과 조교수

Smart Nanocarriers for Theragnostic Applications Based on Biomimetic Mineralization

경희대학교 치의학전문대학원 악안면생체공학과(Hong Jae Lee and Sang Cheon Lee, Department of Maxillofacial Biomedical Engineering, School of Dentistry, Kyung Hee University, 1 Hoegi-Dong, Dongdaemun-Gu, Seoul 130-701, Korea)
e-mail: schlee@khu.ac.kr

바이오미네랄리제이션은 자연뼈 및 치아를 형성하는 중요한 과정으로, 자연뼈는 **그림 2**에서보는 바와 같이 콜라겐(collagen) 삼중 나선형의 자기조립체인 콜라겐 섬유 표면에서 바이오미네랄리제이션에 의해 특정배향성을 갖는 아파타이트 결정화로부터 형성된다.[7,8]

2.2 Biomimetic 미네랄리제이션

천연 바이오미네랄리제이션 과정을 이해함으로써 인위적으로 유기 템플레이트 표면에서 미네랄을 형성하는 biomimetic 미네랄리제이션 기술이 중요한 이슈로 부각되고 있다. 초기연구로, 고분자 체인 위 실리카의 성장을 통한 규조 구조의 모방, 자기조립형 나노파이버 표면 위 인산칼슘 미네랄 형성을 통한 자연뼈 모방 등 나노단위의 구조제어가 중심을 이루었다.[9-12]

최근, 약물전달체로 각광받고 있는 유기 및 무기 나노입자를 템플레이트로 이용해 미네랄리제이션을 유도하는 시도가 잇따르고 있다.[4,5] 이로부터 형성된 하이브리드 나노입자는 약물 및 유전자의 고효율 전달이 가능하다는 이점이 있어 파급효과가 높은 연구분야로 성장하고 있다. 나노입자의 biomimetic 미네랄리제이션 및 약물/유전자 전달 등에 대해 각 장에서 구체적인 내용을 다루도록 하겠다.

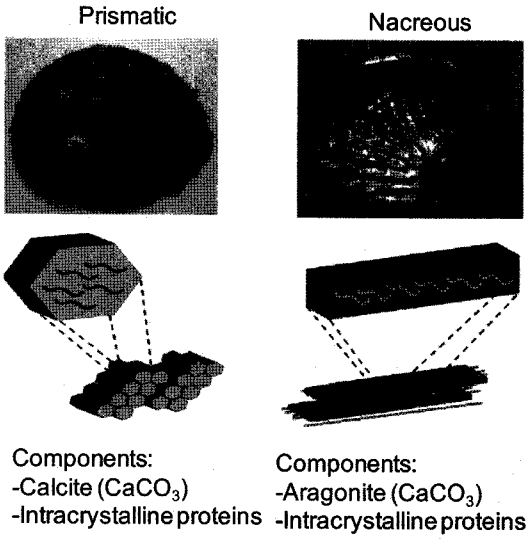

그림 1. 전복(abalone) shell의 내외부 유무기 하이브리드 구조.

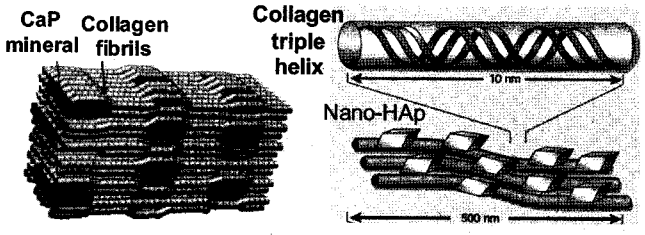

그림 2. 자연뼈의 형성 과정 및 하이브리드 복합 구조.

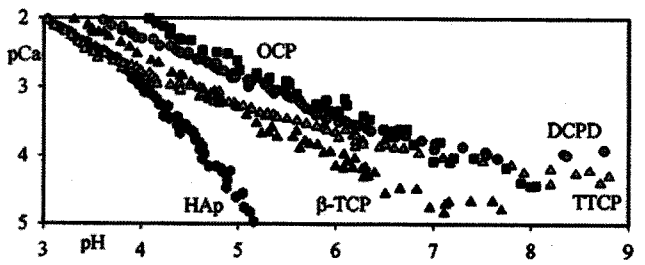

그림 3. 다양한 인산칼슘의 pH 변화에 따른 용해도 변화.

2.3. 나노메디신 적용을 위한 미네랄 특성

나노메디신 분야에 적용 가능한 나노전달체의 개발을 위해 나노입자를 이용한 인산칼슘 및 탄산칼슘 미네랄리제이션에 대한 연구가 잇따르고 있다. 서론에서도 언급한 바, 미네랄은 나노전달체의 혈류 내 구조적 강건성에 기여하고, 세포 내 엔도좀/라이소좀 pH에서 용해되므로 세포 내 선택적 약물전달에 응용 가능하다. **그림 3**에서처럼, 인산칼슘의 용해도는 pH에 의존한다는 것을 알 수 있다.[13] 따라서, 약물, 유전자 등이 탑재된 나노입자에 인산칼슘 및 탄산칼슘 미네랄리제이션을 통해 전달효율이 극대화된 새로운 개념의 전달체를 개발할 수 있을 것으로 기대된다.

3. Biomimetic 미네랄리제이션 기반 나노메디신

3.1 미네랄화 리포좀 나노전달체

Ostafin 등은 미네랄리제이션 기술을 통해 나노 크기의 리포좀 외곽에 수 nm 두께의 무기 인산칼슘 층을 형성시키는 일에 대해 집중적인 연구를 수행하였다.[14,15] 미네랄화된 나노리포좀의 제조는 먼저 전구체로 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphate(DOPA)를 사용하여 리포좀을 형성한 후, $CaCl_2$ 수용액을 첨가하여 리포좀 음이온성 표면에 칼슘 이온을 국부적으로 존재시켰다. 다음 단계로, phosphoric acid를 첨가하여 리포좀 표면 위에서 calcium phosphate 결정의 형성을 유도하였다. 그 결과, 외곽 층이 세라믹 아파타이트로 균일하게 코팅된 리포좀 나노파티클이 형성되었으며, 미네랄리제이션 시간에 따라 인산칼슘 층의 두께가 점차 증가함을 알 수 있다. 이는 미네랄리제이션 반응을 종결시키는 carboxyethylphosphoric acid(CEPA)를 시간을 달리하여 첨가함으로써 얻어지는 하이브리드 구조체를 분석한 결과이다.

또한, Xu 등은 약물을 로딩시킨 리포좀에 미네랄리제이션을 기술을 도입시켜 제조한 입자의 약물 방출 거동에 대한 연구를 수행하였다.[16] 리포

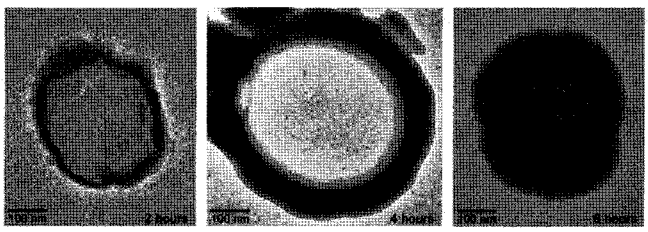

그림 4. 반응 시간에 따른 인산칼슘이 코팅된 리포좀의 TEM 이미지.

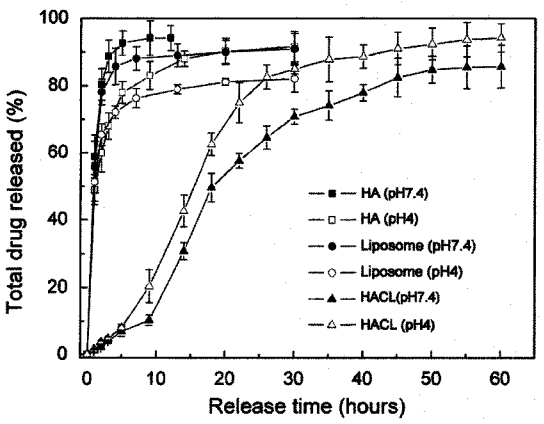

그림 5. 리포솜에 인산칼슘 층의 도입 전, 후의 pH 감응형 약물 방출 거동.

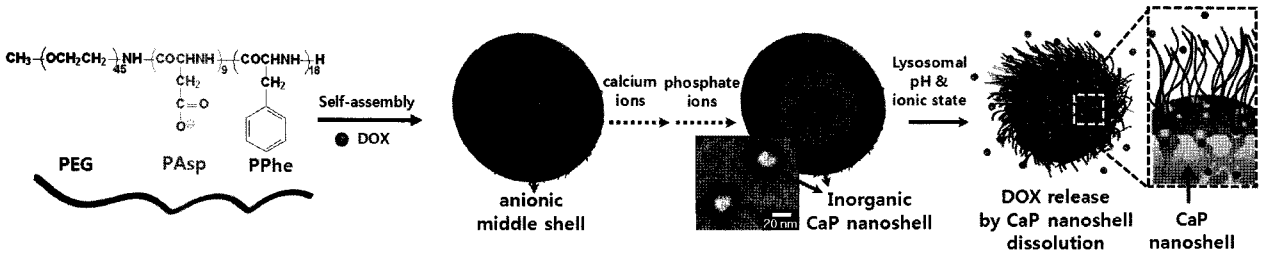

그림 6. 고분자 마이셀의 미네랄화를 통한 인산칼슘 나노껍질형성 및 나노껍질 용해에 대한 방출모식도.

종은 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphate와 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine를 통해 형성하였고, $CaCl_2$와 KH_2PO_4를 사용하여 미네랄리제이션을 유도하였다. 미네랄리제이션 전, 후의 특성을 비교해 본 결과, **그림 4**에서 보는바와 같이 미네랄리제이션 반응 시간에 따라 무기세라믹 층의 두께를 조절할 수 있다는 것을 알 수 있었고, 입자크기는 163에서 585 nm로 증가하였고, 제타포텐셜은 -38에서 -4 mV로 각각 변화되었음을 알 수 있었다. 리포좀에 담지된 약물의 방출거동 특성을 연구한 결과(**그림 5**), 미네랄리제이션을 유도하지 않은 리포좀은 5시간 만에 담지된 약물의 70%가 방출된 반면, 미네랄리제이션을 유도한 리포좀은 20시간에 걸쳐 약물이 방출되었음을 알 수 있었다. 또한 무기세라믹은 pH 7.4 보다 pH 4에서 용해가 더 잘 되기 때문에 pH 4에서 약물 방출 속도가 pH 7.4 보다 더 빠르다는 것을 알 수 있었다. 이것은 리포좀의 무기세라믹 층이 약물방출 속도를 늦추는 역할을 하여 약물방출속도를 조절할 수 있다는 것을 증명한 결과이다.

인산칼슘 고체상 용해도에 영향을 미치는 주요 인자는 수용액의 pH 및 이온농도로 알려져 있으며, 미네랄화된 리포좀은 다양한 소수성 및 친수성 약물의 전달체로서 응용가능성이 높을 것으로 예상된다. 무기 인산칼슘 층의 두께 제어 및 화학량론 조절을 통한 결정상의 제어를 통해 용해 반응속도를 제어하는 기술이 뒤따른다면 내부에 로딩된 약물의 방출속도를 자유롭게 제어할 수 있을 것으로 사료된다. 소개된 기술 외에 리포좀 내부에서 인산칼슘 결정형성을 유도하는 시도도 현재 이루어지고 있다.[17,18]

3.2 미네랄화 고분자 마이셀 나노전달체

현재, 항암약물 및 유전자 전달체로써 응용범위가 넓은 고분자 마이셀 등의 나노입자는 다양한 구조의 양친성 고분자의 자기조립으로 형성되고 있다. 종양조직으로의 선택적인 전달 및 EPR 효과를 극대화하기 위해서 특정 부위에 도달하기 전까지 나노파티클의 구조가 유지되어야 한다. 고분자 자기조립 구조는 고분자 체인과의 평형상태에 있기 때문에, 실질적인 적용을 위해 인체에 도입 시, 체액으로 인한 희석 및 혈류내 성분의 작용으로 자기조립의 붕괴가 빈번하게 일어난다. 이러한 낮은 구조적 안정성이 현재 단점으로 지적되어 왔다. 최근, Lee 등은 자기조립된 고분자 마이셀의 미네랄화를 이용해 인체 투여 후 강한 견고성을 갖고 암조직 표적화 후 약물을 방출할 수 있는 지능형 나노전달체에 대한 연구결과를 보고하였다.[4] 연구에 따르면, poly(ethylene glycol)-*b*-poly(L-aspartic acid)-*b*-poly(L-phenylalanine) (PEG-*b*-PAsp-*b*-PPhe)로 구성된 core-shell-corona 형의 고분자 마이셀에 칼슘 양이온 및 포스페이트 음이온을 연속적으로 첨가해주면 마이셀의 중간 shell에 선택적으로 인산칼슘 나노껍질을 형성시킬 수 있다(**그림 6**). 이때 사용한 미네랄화를 위한 템플레이트 마이셀은 체내 독성이 낮은 고분자 성분이며, 인산칼슘 나노껍질은 인체골 미네랄의 주성분이고 체내 구성이온으로 용해되므로 인체에 무해한 나노전달체이다. 제조한 나노전달체는 약 30 nm 정도의 크기를 가지고 있으며, 마이셀 중간층에 인산칼슘 나노껍질이 형성되었고, EDX 분석 결과도 인산칼슘 구성 성분이 나노전달체에 존재한다는 것을 증명하고 있다(**그림 7**).

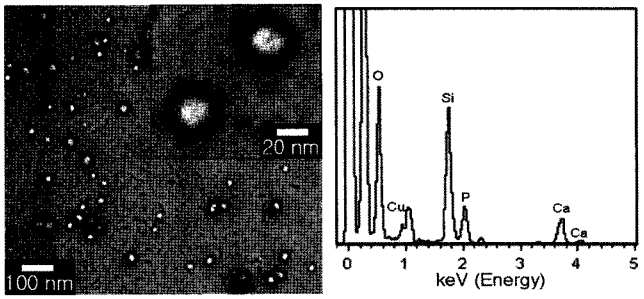

그림 7. 미네랄 나노껍질을 갖는 고분자 나노전달체의 TEM 이미지 및 EDX 분석 결과.

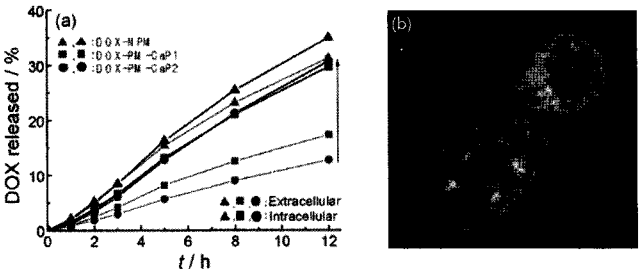

그림 8. (a) 나노전달체의 약물 방출 거동 및 (b) 세포내 약물 전달 이미지.

혈류 내 pH인 pH 7.4에서 약물방출 실험 결과, 세포 내의 엔도좀/라이소좀 환경(pH 4.5)에서 보다 약물방출이 약 50% 정도 감소되는 것을 확인하였다(**그림 8(a)**). 이것은 인산칼슘이 pH 7.4 보다 pH 4.5에서 용해가 더 잘 되기 때문에 약물이 방출되는 속도에 차이가 나는 것이라 할 수 있다. 이로서 인산칼슘 미네랄 나노껍질이 고분자 마이셀의 견고성을 향상시켜 혈류 내에서 붕괴되지 않는 특성을 부여한다는 것을 입증하였다. 약물이 담지된 미네랄리제이션된 나노전달체의 MCF-7 세포 내 이미지를 확인하였다(**그림 8(b)**). 그 결과 나노전달체가 세포 내로 잘 들어가는 것을 확인하였고, 약물이 방출되어 핵까지 전달되는 것을 확인하였다. 본 연구는 미네랄화 기술을 고분자 나노입자에 도입해 견고한 고효율 나노전달체를 개발하는데 성공하였고, 인산칼슘 미네랄의 근본적 특성, 즉 구조적 강건성, pH 감응형 용해특성 및 생체적합성을 현명하게 적용한 기술로 다양한 전달시스템에 응용될 플랫폼 기술을 개발했다는데 의미가 있다.

이밖에 hyaluronic acid에 cholanic acid를 도입하여 약물을 함유한 나노입자를 제조한 후, calcium nitrate와 ammonium phosphate를 사용하여 인산칼슘 미네랄화를 유도하여 안정한 약물담지 나노전달체를 제조한 연구결과가 최근 보고되었다(**그림 9**).[19]

제조한 미네랄화 나노전달체는 구형이며 그 크기는 미네랄을 도입하기

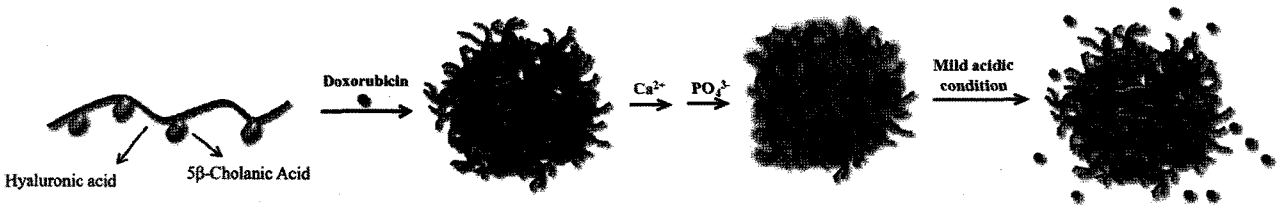

그림 9. 약물담지 hyaluronic acid 나노입자의 미네랄화 모식도.

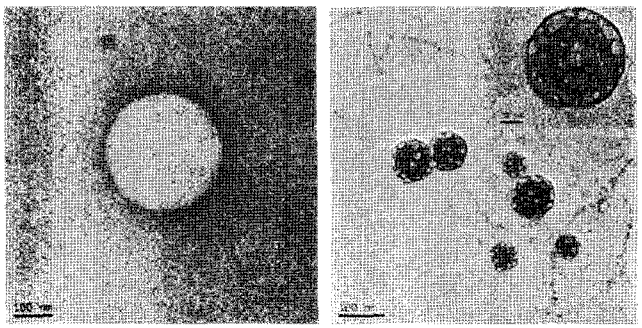

그림 10. Hyaluronic acid 나노입자의 미네랄화 전, 후의 TEM 이미지.

전의 경우 263 nm 였으나, 미네랄을 도입한 후에는 142 nm로 나노입자가 좀 더 컴팩트하게 형성되었다(**그림 10**). 미네랄화 나노전달체는 pH 7.4에서 안정한 사이즈를 나타내었지만, 온화한 산성 pH에서는 그 크기가 증가하였다. 이것은 인산칼슘 미네랄이 용해되어 나타나는 결과라 할 수 있다. 약물이 로딩된 hyaluronic acid 나노입자는 다양한 pH 조건에서 48시간 내에 약 80% 이상의 약물이 방출되었으나, 약물이 로딩된 미네랄화 hyaluronic acid 나노입자의 경우 pH 7.4에서는 서서히 방출되고 산성 pH의 경우에는 약물이 빠르게 방출되는 것을 확인하였다(**그림 11**). 미네랄화 hyaluronic acid 나노입자는 pH에 따라 방출속도가 다르며, 혈류 내(pH 7.4)에서는 미네랄 층으로 인해 약물방출이 억제된 안정한 나노입자형태로 존재하지만, 세포내 엔도좀/라이소좀 pH(pH 4~5) 및 암조직 pH(pH 6.5)에서는 미네랄 층이 용해되면서 약물이 방출되는 시스템이라 할 수 있다.

3.3 미네랄화 메조다공성 나노전달체

메조다공성 실리카 나노입자(mesoporous silica nanoparticle)는 높은 약물담지 효율 및 구조적 강건성으로 인해 나노전달체로서 각광받고 있다. 또 다른 이유로 메조다공성 실리카 나노입자에 다양한 물리적, 화학적 자극(pH, photoirradiation, redox potential, enzyme)에 반응하는 유기물(cyclodextrin, dendrimer), 금속(gold)입자, supramolecular assembly(rotaxanes, polyrotaxanes)등 다양한 "pore blocker" 들을 메조다공성 실리카 나노입자 표면에 도입하여 기공 안에 로딩된 물질을 방출시키는 전달체로서 역할을 충분히 하기 때문이다. 그러나 현재 알려진 대부분의 pore blocker들은 임상 적용에 있어서 체내 독성이 있기 때문에 독성 부작용을 일으키는 단점을 가지고 있다. 따라서, 메조다공성 실리카 나노입자의 "pore blocker"로 독성을 가지고 있지 않는 natural 성분으로 디자인하는 것은 중요한 과제라고 할 수 있다. 최근, molecular valve로서 nucleic acid 와 carbohydrate를 도입한 메조다공성 실리카 나노입자가 소개되었는데 이 연구는 기공차단제로 유기 biomolecules을 사용하였다는 점에서 충분히 가치 있는 시도이다. 이러한 natural 성분의 도입은 생체 내 응용을 위한 메조다공성 실리카 나노입자의 활용에 유용한 지침을 제공할 수 있다.

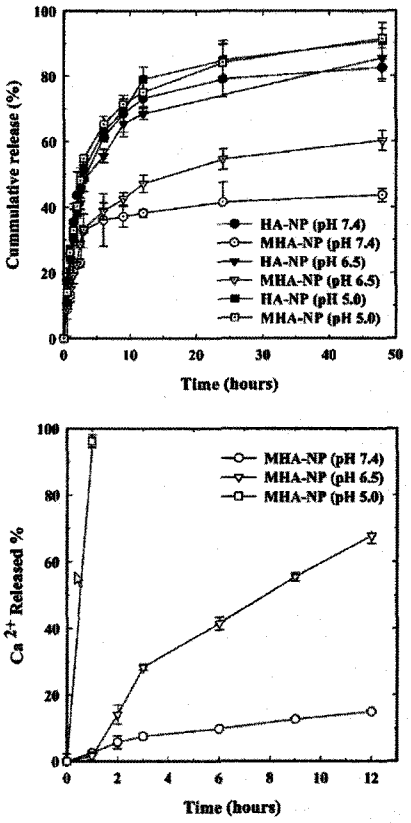

그림 11. 미네랄화된 hyaluronic acid 나노입자의 pH에 따른 약물방출 거동 및 칼슘이온 방출 결과.

최근, Lee 등은 기공 차폐막으로 인산칼슘 코팅을 도입된 새로운 메조다공성 실리카 나노전달체에 대한 연구결과를 보고하였다.[5] 기공 차폐막 역할을 하는 인산칼슘은 인체 내 뼈의 주요구성 요소이며 무엇보다 무독성 무기 biomineral 이라는 특징을 가지고 있다. 인산칼슘의 용해도는 pH에 의존하며, 엔도좀(pH ca. 5.0)과 라이소좀(pH ca. 4.0) 같은 intercellular 환경에서 독성이 없는 calcium과 phosphate 이온으로 용해되어 메조다공성 실리카 나노전달체에 로딩된 약물의 방출을 촉진시키게 된다. **그림 12**에 약물이 로딩된 메조다공성 실리카 나노전달체의 표면 미네랄화 방법 및 intercellular 엔도좀/라이소좀 환경에서 약물 방출 모식도를 나타내었다. 메조다공성 실리카 나노입자 표면에 urease를 도입하고 약물인 doxorubicin을 로딩한 후 hydroxyapatite(HAp)의 pH 4.0 수용액에 urea를 첨가하여 표면에서 미네랄화를 유도하였다.

메조다공성 실리카 나노전달체의 TEM 이미지 분석 결과(**그림 13**), 표면 미네랄화 전에는 메조다공성 실리카의 여러 기공들이 보였으나, 표면 미네랄화 후에는 기공들이 막혀있음을 확인하였고, 미네랄화 전에는 볼 수 없었던 Ca와 P가 표면 미네랄화 후에는 존재하고 있음을 EDX 분

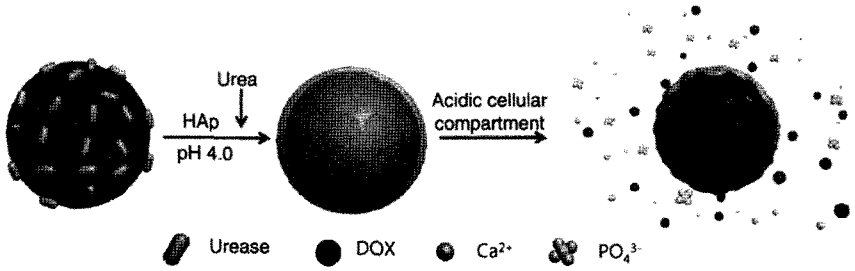

그림 12. 약물이 로딩된 메조다공성 실리카 나노전달체의 표면 미네랄화 및 intracelluar 엔도좀/라이소좀 환경에서의 약물 방출 모식도.

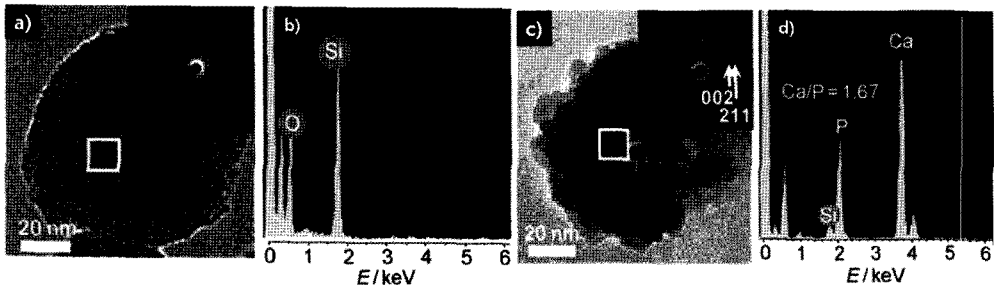

그림 13. 메조다공성 실리카 나노전달체의 표면 미네랄화 전 (a, b), 후 (c, d)의 TEM 이미지 및 EDX 분석 결과.

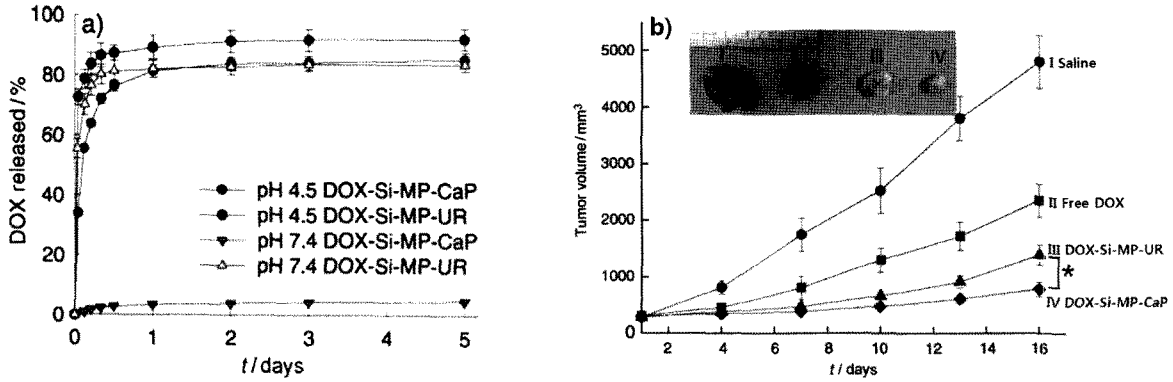

그림 14. 표면 미네랄화 메조다공성 실리카 나노전달체의 약물 방출 실험 결과 및 시간에 따른 *in vivo* tumor 크기 변화.

석 결과 확인함으로서 약물이 로딩된 표면 미네랄화 메조다공성 실리카 나노전달체의 제조를 입증하였다.

메조다공성 실리카 나노전달체의 약물 방출 실험 결과(**그림 14(a)**), 표면 미네랄화를 시키지 않은 메조다공성 실리카 나노전달체의 경우 pH에 상관없이 약물이 급속도로 방출되는 반면, 표면 미네랄화 메조다공성 실리카 나노전달체의 경우 pH 7.4의 경우 약물이 방출되지 않고 pH 4.5의 경우 약물이 방출되는 것을 확인할 수 있다. 이것은 extracellular (pH~ 7.4) 환경에서는 기공차단제 역할을 하는 표면 미네랄 층으로 인해 약물이 잘 담지되고 있다가 엔도좀/라이소좀(pH~ 4.5) 환경에서 표면 미네랄 층이 이온으로 용해되면서 약물이 방출되기 때문이다. 표면 미네랄화된 메조다공성 실리카 나노전달체의 *in vivo* 암치료 효능을 알아보기 위해 MCF-7 human breast cancer의 xenograft model로 시간에 따른 실험을 수행한 결과(**그림 14(b)**), 약물과 약물이 담지된 메조다공성 실리카 나노전달체에 비해 약물담지 미네랄화 메조다공성 실리카 나노전달체의 암 크기가 가장 많이 줄어든 것을 확인하였다.

3.4 미네랄화 유전자 전달시스템

현재까지, 유전자 전달분야에서 연구된 나노파티클은 자극 감응성, 표적지향 특성 등의 기능 도입이 쉬운 유기 고분자 재료에 집중되어 왔으나, 최근 인산칼슘 등의 무기재료를 이용한 시도도 이루어지고 있다.[20,21] 여러 다양한 분야 중 흥미로운 연구테마는, 고분자의 장점에 고분자재료에서는 기대하기 힘든 무기재료의 특성을 혼합한 유/무기 하이브리드 나노 컨테이너의 개발이다. 대표적인 무기재료는 인체의 뼈조직을 구성하는 인산칼슘으로, 체내에서 칼슘 양이온과 포스페이트 음이온으로 용해되므로, 체내에 무해한 특성을 갖고 있다. 인산칼슘과 고분자를 사용한 대표적인 유무기 하이브리드 파티클은 **그림 15**에 나타내었다. 이는 PEG-*b*- poly (aspartic acid) 공중합체의 음이온성 aspartic acid 표면에서 바이오미네랄리제이션과 유사한 기전으로 인산칼슘 결정이 형성되어 최종적으로 세라믹 코어 및 유기 쉘을 갖는 나노파티클이다. 이 하이브리드는 유전자, 단백질 등의 이온성 거대분자 약물을 간단한 과정을 통해 로딩할 수 있다는 장점이 있다.[20,22]

특히, 이 하이브리드 나노전달체를 사용하여 약물 및 유전자의 세포 내 선택적 전달(intracellular drug delivery)이 가능하다는 최근의 연구결과가 보고된 바 있다. Kataoka 등은 **그림 16**과 같이 나노하이브리드의 용해 kinetics에 대한 연구를 통해, extracellular compartment에서는 인산칼슘 코어의 분해가 일어나지 않아 유전자의 방출이 일어나지 않으나, 칼슘 및 포스페이트 이온의 농도가 급격히 변하는 intracellular com-

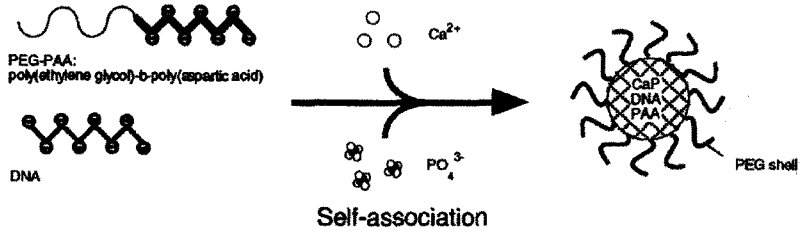

그림 15. DNA가 봉입된 calcium phosphate/PEG-PAA 나노하이브리드 입자의 *in-situ* 제조 과정.

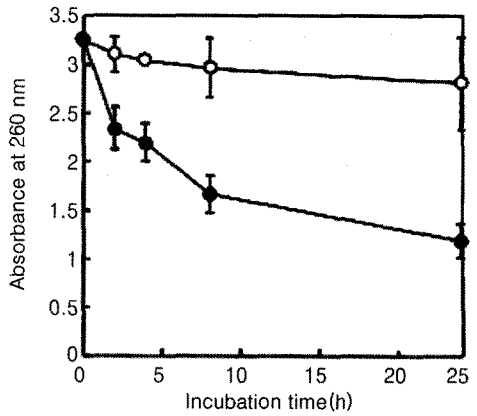

그림 16. Intracelluar (●) 및 extracellular (□) compartment 조건에서의 하이브리드 나노파티클의 dissolution kinetics.

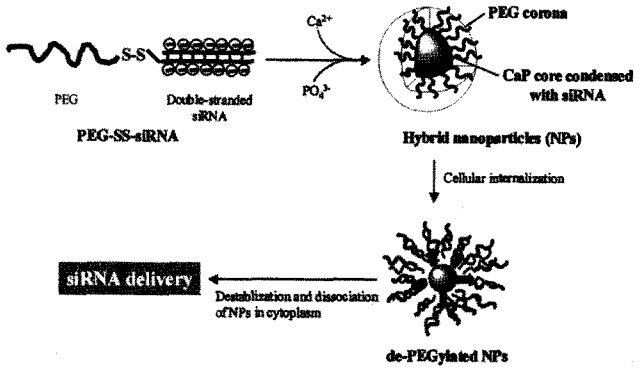

그림 17. PEG-SS-siRNA/CaP 나노입자의 제조 및 siRNA 방출.

partment에서 선택적으로 인산칼슘이 용해되어 유전자가 방출되는 특이한 메커니즘의 가능성을 보고한 바 있다.[20]

또한, Kataoka 등은 siRNA 전달을 위한 새로운 하이브리드 나노입자를 제조하였다.[23] **그림 17**에서와 같이 생체적합성을 가진 PEG와 siRNA를 disulfide 결합을 통해 PEG-SS-siRNA를 제조하였고, Ca^{2+}와 PO_4^{3-}를 도입하여 siRNA와 CaP가 complex된 코어와 PEG 껍질로 구성되어 있는 PEG-SS-siRNA/CaP 균일한 사이즈를 가진 하이브리드 나노입자를 제조하였다. 이 나노입자는 cellular uptake 후 cytoplasm에서 S-S 결합이 끊어지면서 나노입자가 불안정화되어 siRNA가 방출되는 시스템이다. 체계적인 연구가 좀 더 이루어진다면, 신개념의 선택적 약물전달 시스템으로서의 높은 응용가능성을 기대해 볼 수 있을 것이다.

3.5 미네랄화 기술을 이용한 치료/진단용 나노전달체

암의 조기 발견은 적절한 진단과 모든 인간의 성공적인 암 치료를 위해 중요한 요소이지만 현재 이미징 방법의 감도에 의해 제한이 되고 있다. 따라서 효율적인 치료/진단용 물질을 개발하는 것이 필요하며, 최근

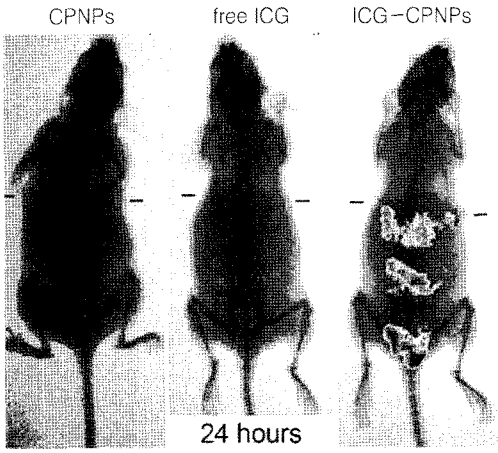

그림 18. CPNPs, free ICG, ICG-CPNPs의 NIR 형광 이미지(Ex. 755 nm, Em. 830 nm).

치료/진단용 물질 연구분야에서 미네랄화 기술을 이용한 연구가 이루어지고 있다. Adair 등은 근적외선(NIR) 발광 형광단 분자인 indocyanine green(ICG)가 존재하는 bioresorbable 인산칼슘 나노입자(CPNPs)를 개발하였다.[24] Poly(ethylene glycol)로 표면기능화된 약 16 nm 크기의 ICG-CPNPs은 0.15 M phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4)에서 뛰어난 콜로이드 안정성을 보였다. ICG-CPNPs는 최대 방출 파장에서 free fluorophore에 비해 상당히 큰 형광 강도를 나타내었다. PBS에서 ICG-CPNPs의 분자당 quantum efficiency는 free fluorophore에 비해 200% 더 크고, encapsulated ICG의 형광 반감기에 기초한 photostability는 전형적인 임상 이미징 조건하에서 free fluorophore에 비해 500% 이상이었다. 이러한 속성은 민감한 진단을 위한 밝기 증가 및 신호 강도 연장을 제공할 수 있다. ICG-CPNPs은 누드 마우스 모델에서 조직의 꼬리 정맥 주사 후 24 시간 내에 EPR을 통해 5 mm 직경의 xenograft breast adenocarcinoma의 종양에 축적되는 것을 확인하였다(**그림 18**). 또한, ICG-CPNPs는 돼지의 근육 조직에서 3 cm 깊이 까지 fluorescence 신호가 감지되는 것을 확인하였다(**그림 19**). 본 연구는 *ex vivo*와 *in vivo* 실험 결과로 볼 때 고체 종양의 조기 발견을 위한 진단 이미징에 있어서 미네랄화 기술이 도입된 NIR CPNPs의 잠재력을 증명한 연구라 할 수 있다.

4. 결론

천연 미네랄리제이션 과정의 이해 및 모방과정을 통해 질병 진단 및 치료에 응용가능한 나노전달체의 개발에 대한 최근 연구동향을 소개하였다. 본 특집에서 다룬 연구동향에서도 알 수 있듯이, 다양한 생체활성 물질 및

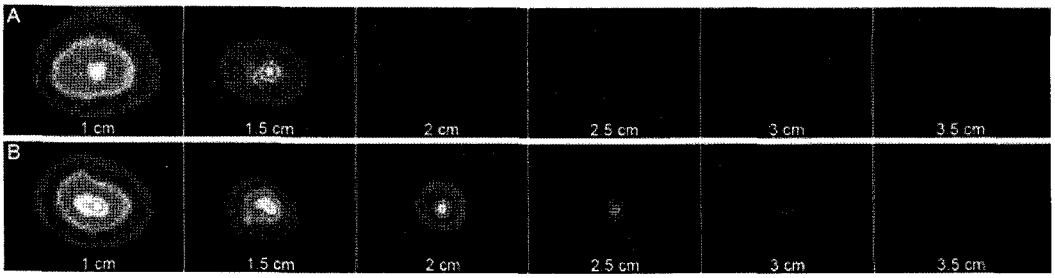

그림 19. 깊이에 따른 free ICG(A)와 ICG-CPNPs(B)의 fluorescence signal intensity.

조영제의 담지 및 표적지향 수송을 위해 나노전달체의 혈류 내 안정성, 담지물의 손실 없는 안정한 수송 및 표적 조직 내에서의 방출 등 서론에서 제시한 주요 기능을 충족할 수 있는 유용한 나노전달체 개발에 biomimetic 미네랄리제이션 기술이 주요한 역할을 할 것으로 사료된다. 현재 약물, 유전자 및 조영제 등의 전달체 개발에 응용되고 있으나 현 단계는 초기 단계라 생각되며, 앞으로 더 폭넓은 응용범위를 갖는 지능형 나노전달체 개발에 파급될 수 있는 기술이라고 사료된다. 또한, 현재 나노전달시스템이 갖는 단점 및 한계를 biomimetic 미네랄리제이션 기술로 극복할 수 있는 가능성도 크게 열려있다고 사료되므로 향후 연구개발이 더욱 기대된다.

참고문헌

1. S. J. Lee, K. H. Min, H. J. Lee, A. N. Koo, H. P. Rim, B. J. Jeon, S. Y. Jeong, J. S. Heo, and S. C. Lee, *Biomacromolecules*, **12**, 1224 (2011).
2. A. N. Koo, H. J. Lee, S. E. Kim, J. H. Chang, C. Park, C. Kim, J. H. Park, and S. C. Lee, *Chem. Commun.*, 6570 (2008).
3. L. Addadi and S. Weiner, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **50**, 49 (1986).
4. H. J. Lee, S. E. Kim, I. K. Kwon, C. Park, C. Kim, J. Yang, and S. C. Lee, *Chem. Comm.*, **46**, 345 (2010).
5. H. P. Rim, K. H. Min, H. J. Lee, S. Y. Jeong, and S. C. Lee, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **50**, 8853 (2011).
6. B. L. Smith, *Nature*, **399**, 761 (1999).
7. S. Weiner and H. D. Wagner, *Annu. Rev. Mater. Sci.*, **28**, 271 (1998).
8. W. Traub and S. Weiner, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **86**, 9822 (1989).
9. A. Xu, Y. Ma and H. Colfen, *J. Mater. Chem.*, **17**, 415 (2007).
10. J. D. Hartgerink, E. Beniash, and S. I. Stupp, *Science*, **294**, 1684 (2001).
11. W. Zhang, S. S. Liao, and F. Z. Cui, *Chem. Mater.*, **15**, 3221 (2003).
12. J. Song, E. Saiz, and C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 1236 (2003).
13. Q. Yang, S. Wang, P. Fan, L. Wang, Y. Di, K. Lin, and F. S. Xiao, *Chem. Mater.*, **17**, 5999 (2005).
14. H. T. Schmidt and A. E. Ostafin, *Adv. Mater.*, **14**, 532 (2002).
15. H. T. Schmidt, B. L. Gray, P. A. Wingert, and A. E. Ostafin, *Chem. Mater.*, **16**, 4942 (2004).
16. Q. Xu, Y. Tanaka, and J. T. Czernuszka, *Biomaterials*, **28**, 2687 (2007).
17. P. B. Messersmith and S. Starke, *Chem. Mater.*, **10**, 117 (1998).
18. M. Michel, M. Winterhalter, L. Darbois, J. Hemmerle, J. C. Voegel, P. Schaaf, and V. Ball, *Langmuir*, **20**, 6127 (2004).
19. S. Han, H. S. Han, S. C. Lee, Y. M. Kang, I. Kim, and J. H. Park, *J. Mater. Chem.*, **21**, 7996 (2011).
20. Y. Kakizawa, S. Furukawa, and K. Kataoka, *J. Controlled Release*, **97**, 345 (2004).
21. I. Roy, S. Mitra, A. Maitra, and S. Mozumdar, *Int. J. Pharm.*, **250**, 25, (2003).
22. Y. Kakizawa and K. Kataoka, *Langmuir*, **18**, 4539 (2002).
23. M. Zhang, A. Ishii, N. Nishiyama, S. Matsumoto, T. Ishii, Y. Yamasaki, and K. Kataoka, *Adv. Mater.*, **21**, 3520 (2009).
24. E. I. A. lu, T. J. Russin, J. M. Kaiser, B. M. Barth, P. C. Eklund, M. Kester, and J. H. Adair, *Acs Nano*, **2**, 2075 (2008).