

635 nm Photodynamic Therapy (PDT)를 이용한 개의 난치성 외이염 치료

이석만 · 조은상* · 임현수 · 김아름** · 손화영¹

충남대학교 의공학과, *충남대학교 수의과대학, **진주과학기술대학

(게재승인: 2013년 9월 26일)

Photodynamic Therapy Using a 632 nm Diode Laser on Otitis Externa of the Dog

Sug man Lee, Eun-Sang Cho*, Hyun soo Lim, Rachel Kim** and Hwa-Young Son ^{*1}

Department of Biomedical Engineering, School of Medicine, Chungnam National University

*College of Veterinary school, Chungnam National University, **Gyeongnam National University of Science and Technology

Abstract : Photodynamic therapy (PDT) is an effective method for infectious disease, but as yet, no clinical trial on otitis externa has been conducted in animals. This report describes 4 cases of PDT treatment on severe otitis externa in canine. Four canines were treated with various concentrations of 5-aminolevulinic acid hydrochloride (5-ALA) and with various J (second × power) and irradiated by light-emitting diode light source at 635 nm, respectively. After the PDT applications, canines incubated in the dark for 5 or 6 hr. All patients showed clinical resolution of otitis externa after PDT treatment at the dose of 0.16~0.3 g ALA and J (54~162 J/cm²). On the basis of these findings, PDT can be considered to be a new therapeutic approach to severe otitis externa in canine.

Key words : photodynamic therapy, otitis externa, canine, 5-aminolevulinic acid hydrochloride.

서 론

외이염은 개에서 많이 발생하는 질병의 하나로 약 20~25% 정도의 발생률을 보이며, 이중 난치성 외이염이 약 55~60% 정도 차지하는 것으로 알려져 있다(15). 주요 증상은 육안적으로 충혈, 부종, 삼출물 등 염증소견, 귀지 증가, 악취, 사경, 소양감, 통증 등 다양하다. 원인은 외상, 세균, 효모, 곰팡이, 외부기생충, 자가면역성 질환, 내분비 이상, 이물, 수분, 부적절한 치료, 약물 등 다양하다(8,14). 난치성 외이염은 지속적인 치료를 요하고 고비용과 2차적 피부질환의 원인이 된다.

광역학치료(Photodynamic therapy, PDT)는 암치료 분야에서 새롭게 주목받고 있는 기술로 체내의 풍부한 산소와 외부에서 공급되는 빛 (레이저)과 빛에 예민한 반응을 보이는 물질 (광감작제)의 종합적인 물리·화학적 반응으로 인해 생성되는 singlet oxygen이나 free radicals을 이용하는 치료 방법이다(7). PDT는 시술방법이 쉬우며, 광과민제가 선택적으로 작용하기 때문에 부작용이 적다(1,10). 1980년대부터 본격적으로 연구가 시작되었으며(6), 캐나다, 독일, 일본 등에서 임상시술이 승인된 이래 미국의 FDA가 식도암 및 초기 폐암치료에 대해 승인을 하였다(5,9). 최근에는 PDT의 적용

분야가 종양이외의 다양한 분야로 확대되고 있다(11,17). 그러나 PDT는 빛을 직접 병변부위의 조직에 전달해야 되고 레이저 광선의 투과 깊이에 한계가 있으므로 피부 등의 표재성 종양 및 세균성 병변이나 외경 2 cm 미만의 고형암 등에 주로 활용되고 있다(3,12). 현재 PDT는 인의분야에서 주로 사용되고 있으며, 수의임상분야에서 사용은 매우 제한적이다.

본 연구에서는 개의 난치성 외이염에서 PDT 치료를 실시하여 광감작제의 농도, 레이저 조사량 변화를 통해 대상 질환의 치료 효과와 최적의 광역학 치료 기본 데이터를 확보하고, PDT의 수의학적 적용영역의 다양한 에너지양(J)을 확립하여 이에 대해 보고하고자 한다.

증 례

광역학 치료를 위한 기기는 PDT laser system(광원: 레이저 다이오드(LD), (주)바이오옵틱스, 대전, 한국)을 이용하였으며, 치료에 쓰인 레이저의 파장은 635 nm를 사용하였다. 시약은 5-aminolevulinic acid hydrochloride (5-ALA) (Sigma-aldrich, MO, USA) (Fig 1)를 알코올에 용해시켜 체중예 따라 양쪽 이도 내에 적당량을 도포하고 암실에서 5 또는 6 시간 계류시킨 후 직접 레이저 조사로 다양한 강도의 에너지로 각각 양쪽 귀에 원통형 조사선으로 조사하였다(Table 1).

본 동물병원에 난치성 중이염 및 외이염으로 내원중인 다

¹Corresponding author.
E-mail : hyson@cnu.ac.kr

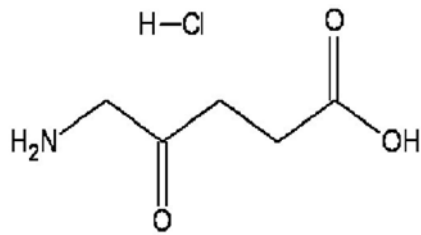


Fig 1. Chemical structure of 5-aminolevulinic acid hydrochloride.

양한 연령 및 성별의 개를 이용하여 치료를 실시하였다 (Table 2). 이개 및 외이도 관찰을 통한 육안적 관찰과 검이경을 통한 검사가 수행되었으며, 이개선충 유무와 점액의 색 및 냄새 등에 관해서 세밀한 검사가 동반되었다. 진균감염의 소견이 보인 경우 진균의 배양은 실온에서 배양매지키트를 사용하여 실행하였다. 각 증례 건은 레이저 조사 외의 다른 치료적 처치 및 투약을 받지 않았다.

1번 증례는 1차 치료 후 7일째까지 증상의 개선이 관찰되지 않았고, 2차 치료 후 서서히 호전되어 육안 및 검이경 검사 결과 3주째 완치 소견을 보였으며, 치료 후 2년째 재발하지 않은 상태이다(Fig 2).

2번의 증례는 치료 1주일 후 내원하여 상태를 체크한 결과 증상이 매우 호전 되었으며, 검이경 검사 결과, 외이도 심저 부도 염증이 현저하게 완화되었다. 3주 후 치료 완료하였으며, 치료 2년 후에도 외이염은 재발되지 않고 있다(Fig 3).

3번의 증례는 치료 2주 후 검이경 검사 결과 완치된 것으로 확인되었으며, 치료 1년 후 외이염이 재발되지 않은 상태이다(Fig 4).

4번의 증례는 치료 후 3주 후에 검이경 검사결과 외이도 심저부까지 염증이 치료되었음을 확인하였다(Fig 5).

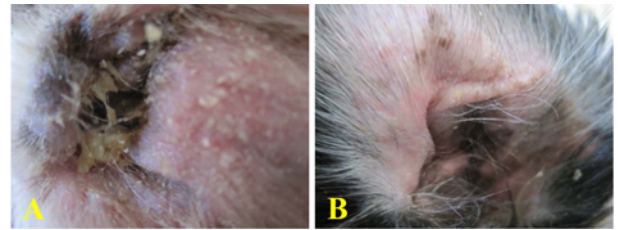


Fig 3. Gross lesion of case 2. A: Pretreatment, B: After PDT treatment.

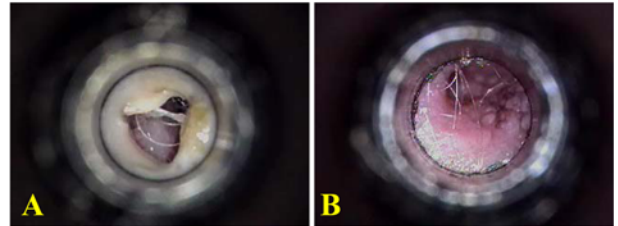


Fig 5. Photograph of ear canal with auriscope of case 4. A: pretreatment, B: After PDT treatment.

결과 및 고찰

외이의 난치성 염증성 질환은 다양한 원인에 의해 발생하기 때문에 각 원인에 따른 적절한 조치가 필수적으로 요구되며, 세균 감염에 의한 외이염이 잘 치료되지 않는다면 세균 배양과 항생제 감수성 검사를 하여 적절한 항생제를 선택하여 치료해야 한다(16). 난치성 외이염은 주로 항생제를 이용한 반복적인 치료 시 내성에 의해 치료가 안 되는 경우와 정상건의 36% 및 병건의 45%에서 검출되는 *Pityrosporum* 속 등의 진균감염에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다(18). 만성 재발성 염증에 의해 이도가 폐쇄되는 경우에는 외과적



Fig 2. Gross lesion of case 1. A: pretreatment, B: 2 weeks after PDT treatment, C: 3 weeks after PDT treatment.

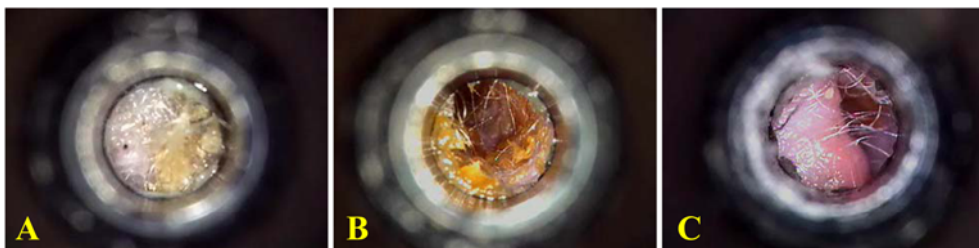


Fig 4. Photograph of ear canal with auriscope of case 3. A: pretreatment, B: 2 weeks after PDT treatment, C: 4 weeks after PDT treatment.

Table 1. Conditions of photodynamic therapy

Case No.	*Dose of ALA (Left/Right ear)	Incubation time	1st PDT application conditions	2nd PDT application conditions
1	0.12/0.12 g	5 hr	60 mw × 1800 Sec (108 J)	60 mw × 1800 Sec (108 J) or 30 mw × 1800 Sec (54 J)
2	0.15/0.3 g	5 hr	90 mw × 1800 Sec (162 J) 50 mw × 2400 Sec (120 J)	
3	0.3/0.3 g	5 hr	60 mw × 1200 Sec (72 J)	
4	0.3/0.3 g	6 hr	60 mw × 1200 Sec (72 J)	

* 5-aminolevulinic acid hydrochloride

Table 2. Clinical information of cases

Case No.	Age	Gender	Weight (kg)	Breed	Clinical signs
1	9	Male	5.8	Shih-tzu	Odor, Edema/Hyperemia, Purulent exudate, Pain, Torticollis, <i>Pityrosporum</i> spp.
2	7	Female	2.5	Yorkshire terrier	Odor, Edema/Hyperemia, Purulent exudate, Pain, Torticollis, <i>Pityrosporum</i> spp.
3	5	Male	2.4	Yorkshire terrier	Odor, Edema/Hyperemia, Purulent exudate, Pain, Torticollis, <i>Pityrosporum</i> spp.
4	2	Female	6.0	Shih-tzu	Odor, Edema/Hyperemia, Purulent exudate, Torticollis, <i>Pityrosporum</i> spp.

으로 컷구멍을 넓혀주는 수술이나 외이도를 제거하는 수술이 고려되나 현실적으로 수술에 대한 거부감과 수술 후 외이염의 재발가능성 등이 있다(14).

PDT는 광감작 물질의 세균에 대한 직접적인 파괴 및 독성 효과로 인해 치료 효과를 보이는 방법으로 광감작 물질로는 주로 protoporphyrin (PpIX)의 전구 물질인 ALA가 짧은 반감기로 인해 주로 사용되고 있다(19). 600~1000 nm 사이의 파장은 조직 구성분의 낮은 흡수도 때문에 대부분의 인체 조직에서 최고의 투과력을 갖고 세포 기관에 의해 상대적으로 비효율적으로 산란된다(21). 최근 연구에서 광민감제 투여 이후의 흡수대중 630 nm 근방에서 가장 높은 효율을 나타내었으며, 400 mW/cm², 250 sec 조건에서 성공적인 치료효과를 보였다(13). 또한 *Helicobacter pylori*에 대한 살균능 시험에서 632 nm 파장으로 4 J/cm², 3시간의 노출에서 효과가 있는 것으로 보고되었다(2). 본 연구에서는 635 nm 파장으로 54~162 J의 노출에서 난치성 외이염 치료에 효과적인 것으로 확인되었다. 이 치료법은 마취없이 1례를 제외하고 1회 치료로 90%이상 완치되었으며, 치료 후 재발된 경우가 없었다. 가장 병증이 심한 1번 증례도 2회의 PDT 치료로 완치되었다. 본 연구에서 광감작제의 농도, 레이저 조사량 변화를 통해 난치성 외이염의 치료 효과와 최적의 광역학 치료 기본 data를 확립하였으나, 광감작제의 종류 및 용량 모델 개발, PDT 치료효과의 극대화 모델 개발 (치료회수, 치료간격, 치료시간, probe와 개체와의 거리, 레이저 조사시간 및 조사방향) 등에 관한 추가적인 연구가 필요하다. 또한 다양한 증례에 대한 적용 실험을 통하여 적정치료조건을 확립한다면 난치성 외이염의 치료에 PDT가 상당히 유용

한 대체치료법으로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

PDT에서 가장 중요한 요소는 파장에 따른 레이저의 병소 투과깊이와 파장의 종류에 따라 반응하는 광감작제이다. 현재까지 임상적으로 사용되고 있는 파장대는 630 nm, 650 nm, 670 nm 등의 PDT 기기가 개발되었고 각 파장에 따른 시약이 개발되었으나 국내에는 630 nm대의 파장대에 가장 많이 반응하는 Photofrin과 5-ALA 시약이 시판되고 있다. 본 실험은 635 nm PDT와 5-ALA를 이용하여 치료하였다. 다양한 광감작제는 개발순서에 따라 1세대, 2세대, 3세대 등으로 분류한다. Photogem, Photofrin, ALA 등과 같은 1세대 물질은 많은 임상적용 실험을 통해 현재 각국의 보건 당국으로부터 허가를 받고 사용되고 있으며(20), 국내에서는 Photofrin과 Photogem이 식약청의 허가를 획득하여 시판중이다. 본 연구에서 사용된 광감작제인 ALA는 heme의 생합성 경로내의 대사 전구물질로 heme의 전구물질인 protoporphyrin IX (PpIX)의 생성을 촉진하여 광역학치료에 이용되어지고 있으며, 크림 형태의 ALA의 개발로 피부에 쉽게 투여할 수 있고 빛의 조사가 간편한 관계로 주로 피부 영역에서 사용되었으나 최근에는 호흡기 분야 뿐만 아니라 다른 분야에도 이용되고 있는 추세이다(4,22).

본 연구에서는 635 nm PDT 치료시, 54-162J에서 레이저 조사에 의한 화상의 부작용 없이 치료될 수 있는 적정 에너지양을 확인하였다. 또한 광감작제로 5-ALA가 0.12~0.3 g 농도에서 난치성 외이염의 치료에 매우 효과적으로 작용하여 임상적용 가능성이 매우 높은 것으로 생각된다. 추가적으로 외이염의 원인과 증상의 정도에 따른 적절한 조사 에너지양과 시간 및 ALA의 투여용량 설정, 시약투여 방법 등에

대한 연구가 필요하다고 생각된다.

결 론

본 연구는 PDT를 이용한 개의 난치성 외이염 치료시험으로 조사방법과 광감작제의 농도, 레이저 조사량 변화를 통해 대상 질환의 치료 효과와 최적의 광역학 치료 조건에 대한 기본 data를 확립하였다. 본 임상실험을 통해 광감작제로 5-ALA를 0.12~0.3 g 농도로 사용하여 635 nm 파장으로 54~162 J 노출에서 외이염 치료에 효과적인 것으로 확인되었다. 난치성 외이염으로 진단된 개에서 PDT가 치료 시 통증을 유발하지 않고 유의한 치료효과를 보여 PDT 치료가 난치성 재발성 외이염의 새로운 치료법으로 상당히 유용한 것으로 생각된다. 또한 동물의 암치료에 국한되어 있는 PDT를 난치성 염증질환 등 다양한 질환치료에 적용을 확대할 수 있는 가능성을 제시한데 의의가 있다.

감사의 글

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education, Science and Technology (2010-0011450).

참 고 문 헌

- Ackroyd R, Kelty C, Brown N, Reed M. The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochem Photobiol* 2001; 74: 656-669.
- Ahn JC, Shin JI, Chang SY. Antibacterial Effect of Photodynamic Therapy using Photogem and a 632 nm Diode Laser on *Helicobacter pylori*. *J Exp Biomed Sci* 2011; 17: 363-366.
- Allison RR, Moghissi K. Photodynamic Therapy (PDT): PDT Mechanisms. *Clin Endosc* 2013; 46: 24-29.
- Baumgartner R, Huber RM, Schulz HJ, Stepp H, Rick K, Gamarra F, Leberig A, Roth. Inhalation of 5-aminolevulinic acid: a new technique for fluorescence detection of early stage lung cancer. *J Photochem Photobiol B* 1996; 36: 167-174.
- Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW, Jori G, Kessel D, Korbek M, Moan J, Peng Q. Photodynamic therapy. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 889-905.
- Dougherty TJ, Kaufman JE, Goldfarb A, Weishaupt KR, Boyle D, Mittleman A. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res* 1978; 38: 2628-2635.
- Gomer CJ, Rucker N, Ferrario A, Wong S. Properties and applications of photodynamic therapy. *Radiat Res* 1989; 120: 1-18.
- Gotthelf LN. Perpetuating factors and treatment of otitis externa. In: Gotthelf LN. ed. *Small Animal Ear Diseases: an Illustrated Guide*. St. Louis: Elsevier, 2005: 173-201.
- Hopper C. Photodynamic therapy: a clinical reality in the treatment of cancer. *Lancet Oncol* 2000; 1: 212-219.
- Kato H. History of photodynamic therapy: past, present and future. *Gan To Kagaku Ryoho* 1996; 23: 8-15.
- Kurlenda J, Grinholtz M. Alternative therapies in *Staphylococcus aureus* diseases. *Acta Biochim Pol* 2012; 59: 171-184.
- Lee Y, Baron ED. Photodynamic therapy: current evidence and applications in dermatology. *Semin Cutan Med Surg* 2011; 30: 199-209.
- Lim HS. Reduction of thermal damage in photodynamic therapy by laser irradiation techniques. *Biomed Opt* 2012; 7: 128001.
- Murphy KM. A review of techniques for the investigation of otitis externa and otitis media. *Clin Tech Small Anim Pract* 2001; 16: 236-241.
- Rosser EJ Jr. Causes of otitis externa. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2004; 34: 459-468.
- Saridomichelakis MN, Farmaki R, Leontides LS, Koutinas AF. Aetiology of canine otitis externa: a retrospective study of 100 cases. *Vet Dermatol* 2007; 18: 341-347.
- Sharma SK, Mroz P, Dai T, Huang YY, St Denis TG, Hamblin MR. Photodynamic Therapy for Cancer and for Infections: What Is the Difference? *Isr J Chem* 2012; 52: 691-705.
- Sharma VD, Rhoades HE. The occurrence and microbiology of otitis externa in the dog. *J Small Anim Pract* 1975; 16: 241-247.
- Tan WC, Fulljames C, Stone N, Dix AJ, Shepherd N, Roberts DJ, Brown SB, Krasner N, Barr H. Photodynamic therapy using 5-aminolaevulinic acid for oesophageal adenocarcinoma associated with Barrett's metaplasia. *J Photochem Photobiol B* 1999; 53: 75-80.
- Trindade FZ, Pavarina AC, Ribeiro AP, Bagnato VS, Vergani CE, Costa CA. Toxicity of photodynamic therapy with LED associated to Photogem® an in vivo study. *Lasers Med Sci* 2012; 27: 403-411.
- Tuchin VV. Short pulse propagation in tissue. In: *Tissue Optics : Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis*. 2nd ed. Bellingham: SPIE Press. 2000: 22-27.
- Uehlinger P, Zellweger M, Wagnieres G, Juillerat-Jeanneret L, van den Bergh H, Lange N. 5-Aminolevulinic acid and its derivatives: physical chemical properties and protoporphyrin IX formation in cultured cells. *J Photochem Photobiol B* 2000; 54: 72-80.