http://dx.doi.org/10.14400/JDC.2014.12.6.407

황색포도알균과 표피포도알균에 대한 포토프린과 라다클로린의 광역학 효과

서충원*, 류재기**, 권필승***
서남대학교 임상병리학과*, 김천대학교 임상병리학과**, 원광보건대학교 임상병리과***

Photodynamic effect of Photofrin and Radachlorin against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*

Choong-Won Seo*, Jae-Gi Ryu, Pil-Seung Kwon*****
Dept. of Biomedical Laboratory Science, Seonam University*
Dept. of Biomedical Laboratory Science, Gimcheon University**
Dept. of Biomedical Laboratory Science, Wonkwang Health Science University***

요 약 이 연구의 목적은 광감작제인 라다클로린과 포토프린을 발광다이오드에 접목하여 포도알균의 광역학치료 효과를 평가하고자 하였다. 실험방법은 황색포도알균이나 표피포도알균의 1×10^5 CFU/㎖이 되게 균주부유액을 준비하였고, 광감작제(포토프린 또는 라다클로린)를 1.25, 2.5, 5, 10 ㎍/㎖가 되도록 희석하였다. 균주희석액은 에너지밀도 각각 14.4 J/cm^{2}와 19.8 J/cm^{2}로 630 또는 670 파장 발광다이오드 빛을 조사하였다. 황색포도알균과 표피포도알균의 집락형성수는 포토프린 5 ㎍/㎖ 농도에서 33, 50개의 집락이 각각 형성되었고, 두 세균 모두 라다클로린 5 ㎍/㎖ 농도에서는 완전한 살균을 나타냈다. 유세포분석에 의한 형광강도는 정상세포보다 죽은세포에서 증가를 보였다. 투과전자현미경의 사진에서는 세포막의 손상과 부분적으로 세포형태의 파괴가 관찰되었다. 이 결과로 포토프린과 라다클로린을 이용한 광역학치료는 항균치료의 새로운 방법이 될 수 있음을 제의한다.

주제어 : 광역학치료, 포토프린, 라다클로린, 황색포도알균, 표피포도알균

Abstract The aim of this study was to evaluate the photodynamic therapy effects against staphylococci using Photofrin and Radachlorin with Light emitting diode(LED). Experimental methods, The bacterial suspensions containing Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis at $1x10^5$ were prepared and diluted to different concentrations of photosensitizer, Photofrin or Radachlorin, on 1.25, 2. 5,5 and 10 ㎍/㎖. The bacterial suspensions were exposed to 630 and 670 nm LED light at the energy density of 14.4 and 19.8 J/㎠, respectively. The CFU results of S. aureus and S. epidermidis were showed 33 and 50 colony forming at 5 ㎍/㎖ of Photofrin, respectively and both of them perfectely were dead at 5 ㎍/㎖ of Radachlorin. The fluorescent intensity by flow cytometry was showed the increase in the dead cells than the normal cells. In the TEM photograph, the damage of bacterial membrane and the distortion of cell morphology were observed. These results suggest that photodynamic therapy combine with Photofrin and Radachlorin can be applied a new modality for antibacterial therapy.

Key Words : Photodynamic therapy(PDT), Photofrin, Radachlorin, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*

* 본 논문은 2013년 원광보건대학의 학술연구비에 의하여 지원되었음
Received 20 March 2014, Revised 20 April 2014
Accepted 20 June 2014
Corresponding Author: Pil-Seung Kwon(Wonkwang Health Science University)
Email: pskwon@wu.ac.kr

ISSN: 1738-1916

© The Society of Digital Policy & Management. All rights reserved. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서론

광역학치료(Photodynamic Therapy, PDT)는 레이저 빛에 예민한 반응을 보이는 광감작제(photosensitizer)를 종양에 투여하고 광감작제가 활성화되는 특정 파장의 빛을 조사하여 광화학적 방법과 광생물학적 기전에 의해 암조직을 특이적으로 손상시키는 암치료 방법이다[1]. 광역학치료에 의한 세포내 작용기전의 시작은 광물리현상으로 이해되고 있는데 기저상태의 광감작제를 특정파장의 빛으로 활성화시켜 단일항 상태나 삼중항 상태로 되고 여기서 기저상태로 될 때 방출되는 에너지가 산소와 반응하여 활성산소(O_2)를 생성시키거나(TypeⅡ반응) 감작제가 전자전달계에 관여하는 경우 자유라디칼이 형성되어(TypeⅠ반응) 세포파괴가 일어난다[2]. 포도알균속은 그람양성의 흔히 알려진 기회감염균으로 피부 및 연조직 감염증 등 표층부의 감염증에서부터 심부조직 감염증까지 매우 다양하며, 포도알균 열상 피부증후군은 피부감염의 주 원인균인 황색포도알균(*Staphylococcus aureus, S. aureus*)은 외독소에 의해 전신의 피부에 수포성발진과 피부박탈을 일으키는 질환이다[3,4]. 황색포도알균은 다양한 감염경로를 통하여 감염증을 일으키고, 감염 치료에 사용되었던 페니실린(penicillin)에 대한 내성균이 출현하여 이를 치료하기 위한 메티실린(methicillin)이 1960년에 도입되었으나, 1961년에 메티실린 내성 황색포도알균(Methicillin Resistant *S. aureus*, MRSA)이 확인되었다[5]. 국내 임상에서 분리된 황색포도알균 중 MRSA균은 1990년대 초부터 60-70%를 차지하고 있다[6].

표피포도알균(*Staphylococcus epidermidis*, *S. epidermidis*)은 Coagulase 음성 포도알균(Coagulase-Negative Staphylococci, CNS)중 대표적인 피부상재균으로 병원성이 낮은 기회 감염균이다. 이러한 대표적인 포도알균 감염은 항생제의 오남용으로 MRSA와 같은 다제내성을 유발하는 균들이 나오면서 치료가 어렵게 되고 있는 실정이다[7]. 이러한 포도알균들의 항생제 내성에서 자유로울 수 있는 치료방법의 대안으로 광역학 치료법이 대두되고 있다[8].

본 연구에서는 포도알균성 피부감염치료로 630, 670 nm LED array를 자체 개발하여 광감작제인 포토프린과 라다클로린을 이용한 PDT의 항균효과의 유용성을 알아보고자 하였다.

2. 연구방법

2.1 대상균주

표준 균주는 *S. aureus*(ATCC 5923)와 *S. epidermidis*(ATCC 12228)을 이용하여 50% glycerol brain heart infusion broth에 접종하여 -70℃ 냉동고에 보관하였고, 혈액한천배지(Blood agar plate, BAP)에 계대배양하여 37℃ 배양기(Thermo Forma, 47502-3362)에서 하루 동안 배양하여 사용하였다.

2.2 광원과 광감작제

본 연구에 사용된 광감작제는 Photofrin®(Axcan Pharma Inc, Canada, 포토프린)을 구입하여 Dulbecco's phosphate buffered saline(Hyclone, USA)에 1,000㎍/㎖로 녹여 만든 뒤 0.2 ㎛ filter로 여과하여 사용하였고, Radachlorin®(RADA-PHARMA Co, Ltd., Moscow, Russia, 라다클로린)은 액체앰플을 Dulbecco's phosphate buffered saline(Hyclone, USA)에 1,000 ㎍/㎖로 희석하여 사용하였다.

광원은 LED를 자체 제작하여 사용하였고, LED는 5Φ의 원통모양으로 시험관에 조사하기 위해 630, 670 ㎚ LED array를 각각 제작하였다. 포토프린의 최대흡수파장은 630 nm이고 라다클로린의 최대흡수파장은 668 nm이므로 가장 적합한 파장의 LED array를 제작하였다.

LED array는 가로 75 mm × 세로 110 mm PCB판에 총 192 개의 LED가 장착되었고, 회로 연결은 직렬과 병렬을 병합하였고, 직류 전원을 사용하였고, 수명 연장과 손상을 방지하기 위하여 안정적으로 저항을 150 Ω으로 하였으며, LED array와 조사받는 24 well plate와의 거리는 100 ㎜로 하고 에너지밀도는 파워미터 Power Max R(Coherent Inc., Portland, USA)로 측정하여 630 ㎚ LED array는 평균 8 ㎽/㎠의 에너지로, 30 분 동안 조사하여 최종 에너지밀도는 14.4 J/㎠이었고, 670 ㎚ LED array는 평균 11.0 ㎽/㎠의 에너지로, 30 분 동안 조사하여 최종 에너지밀도는 19.8 J/㎠이었다.

2.3 집락형성수(Colony Forming Units)시험

냉동고에 보관되어 있는 황색포도알균와 표피포도알균을 BAP 에 접종하고 loop를 사용하여 3차 획선 긋기(stereaking)를 하였다. 그 후 5% CO_2와 37 ℃의 온도가 유지되는 배양기(VS-9108MS, Korea)에서 하룻밤 배양하였다. 배양된 plate의 배지집락의 오염유무를 확인하여 오염이 없을 경우 Polyethylene cap tube(SPL Life Sciences, Korea)에 Muller hintone broth을 넣고 BAP에 자란 황색포도알균과 표피포도알균을 멸균된 면봉으로 1~3개의 단독집락을 딴다. 그 후 탁도계(Densicheck plus, biomeriex, USA)에 장착하여 McFarland No. 0.5로 맞춘 후 1.5×10^5 cells/㎖ 농도가 되도록 균주부유액을 계단 희석하였다. 광감각제의 농도는 균주부유액과 함께 희석되어 최종농도 10, 5, 2.5, 1.25 ㎍/㎖가 되도록 한 후 혼합하였다. 그 후 알루미늄 호일을 이용하여 빛을 차단시키고 37℃ 배양기에서 1 시간 동안 반응시켰고 PDT를 시행하였다. LED 조사가 끝난 후 혼합기로 혼합 후 BAP에 각 군별로 20 ㎕씩 분주 후 스프레더를 이용하여 접종한 후 18~24 시간 3 7℃ 배양기에서 산소성 배양 후 생성된 집락의 수를 세었다. 각 그룹별로 대조군은 Control, L+P-은 LED 빛만 조사한 군, L-P+은 포토프린과 라다클로린 10 ㎍/㎖만을 처리한 군, L+P+10은 포토프린과 라다클로린 10 ㎍/㎖와 LED를 조사한 PDT군이며, 또한 L+P+5, L+P+2.5, L+P+1.25는 포토프린과 라다클로린을 2 배씩 계단 희석하여 LED를 조사한 PDT군이다. 각 그룹 당 6회 측정하였으며, 100개 이상 되는 집락에 대해서는 멸균된 Normal Saline으로 희석하여 집락수를 세었다[16].

2.4 광역학 치료 후 유세포분석

유세포분석을 위하여 PDT가 끝난 tube를 다시 한 번 stain buffer 1 ㎖씩 첨가한 후 가볍게 혼합 후 1,300 rpm으로 5분간 원심분리 하였다. 상층액을 버린 후 pellets에 stain buffer 0.5 ㎖씩 각 균주에 분주한 후 사멸된 세균만 염색되는 시약 propidium iodide (PI, BD, catalog No. 349483)를 5 ㎕씩 분주하고 vortex mixer한 후 5 분 동안 실온에서 항온 시켜서 염색시켰다. 그 후 Flow cytometry(BD, FACSCAN)으로 포토프린은 10000개, 라다클로린은 30000개의 세포를 세어 분석하였다. 이때 사용된 레이저 파장은 448 ㎚의 laser excitation이였으며, 분석기의 초기 instrument setting은 threshold-SSC, FSC-E01, SSC-375V, FL1-600V, FL3-800V이였다. 분석프로그램은 BD사 CellQuest-pro를 사용하였다.

2.5 광역학 치료 후 세균형태변화 관찰

PDT 후 CFU test를 해본 결과를 얻은 후 살균효과를 보인 광감작제 농도의 tube에서 균주희석액과 대조군의 균주희석액을 tube에 취하여 동량의 5% glutaraldehyde (pH 7.4)로 4 ℃에서 12 시간 전 고정하였다. 5,000 g에 20분간 원심분리하고 상층액은 버린 후 얻어진 pellets를 2% osmium tetroxide용액 1 ㎖을 첨가하고 1 시간 후 고정을 실시하였다.

그 후 DPBS용액으로 washing을 2회 실시하고 그 후 에탄올로 탈수시키고 Eponate로 포매했다. 60 ℃ 오븐에서 40 시간 경화시켰다. block을 ultra micro tome으로 준초박절편을 0.4 ㎛로 만들고 이를 toluidine blue로 염색 후 광학현미경으로 정확한 부위를 확인한 다음 초박절편 50 ㎚로 얇게 만들었다. uranyl acetate와 lead acetate로 이중염색을 하였고, 투과전자현미경(HITACHI, H-7000B 모델) 75 KV으로 세균의 형태를 관찰하였다.

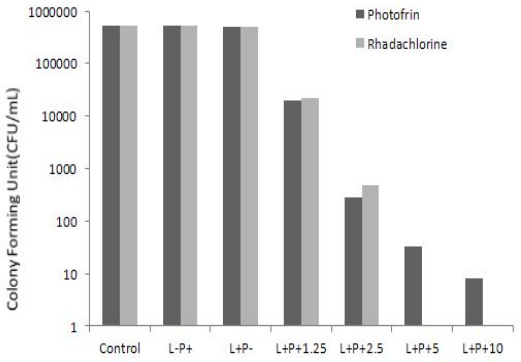
3. 결과

3.1 *S. aureus*의 CFU결과

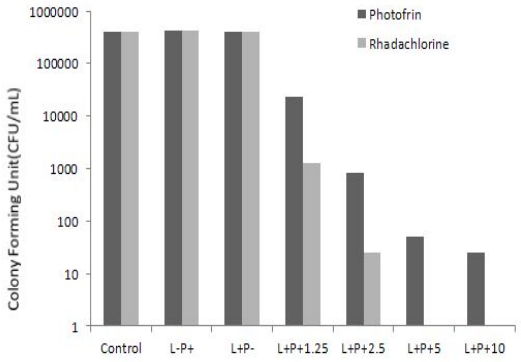
포토프린 PDT 결과는 Control, L+P-, L-P+군의 집락형성 수는 평균 5.2×10^5, 5.3×10^5, 4.9×10^5개의 집락이 형성되었고, PDT군은 L+P+1.25, L+P+2.5, L+P+5과, L+P+10에서는 각각의 평균 19850, 283, 33과 8개의 집락이 형성되었다. 라다클로린 PDT결과는 Control, L+P-, L-P+군의 집락형성 수는 평균 5.2×10^5, 5.3×10^5, 4.9×10^5개의 집락이 형성되었고, PDT군은 L+P+1.25, L+P+2.5에서는 평균 22500, 491개의 집락이 형성되었으며, L+P+5과 L+P+10에서는 완전히 사멸되어 집락형성이 없었다[Fig 1].

3.2 *S. epidermidis*의 CFU결과

포토프린 PDT결과는 Control, L+P-, L-P+군의 집락형성 수는 평균 4.0×10^5, 4.2×10^5, 4.1×10^5개의 집락이 형성되었고, L+P+1.25, L+P+2.5, L+P+5과 L+P+10에서는 평균 23366, 808, 50과 25개의 집락이 형성되었다. 라다클



[Fig. 1] *S. aureus* were evaluated by colony forming unit test after PDT with Photofrin and Radachlorin. The irradiation wavelength was 630nm LED for Photofrin, and 670nm LED for Radachlorin. No treated group, Control; LED only group, L+P−; Photosensitizer only, L−P+; The irradiated with 1.25, 2.5, 5 and 10 ㎍/㎖ concentration of Photofrin and Radachlorin on *S. aureus*, L+P+(1.25,2.5, 5,10).



[Fig. 2] *S. epidermidis* were evaluated by colony forming unit test after PDT with Photofrin and Radachlorin. The irradiation wavelength was 630 nm LED for Photofrin, and 670 nm LED for Radachlorin. No treated group, Control; LED only group, L+P−; Photosensitizer only, L−P+; The irradiated with 1.25, 2.5, 5 and 10 ㎍/㎖ concentration of Photofrin and Radachlorin on *S. aureus*, L+P+(1.25,2.5,5,10).

로린 PDT결과는 Control, L+P−, L−P+군의 집락형성 수는 평균 4.0×10^5, 4.2×10^5, 4.1×10^5개의 집락이 형성되었고, PDT군은 L+P+1.25, L+P+2.5에서는 평균 1291, 25개의 집락이 형성되었으며, L+P+5과 L+P+10에서는 완전히 사멸되어 집락형성이 없었다[Fig 2].

3.3 광역학 치료 후 유세포 분석

유세포 분석 결과는 X축은 PI(BD, catalog No 349483)에 염색 된 세균의 염색강도는 세포막이 손상을 받아 염색액이 안으로 침투하기 때문에 사멸된 세포만 염색이 된다. Y축은 세균의 개체수를 나타내고, 먼저 X축 FSC(Forward Scotter)와 Y축 SSC(Side scotter)를 지정하고 대조군을 분석하여 집락을 형성하는 부위를 확인하였다. 그 다음 histogram을 사용하여 분석하였다.

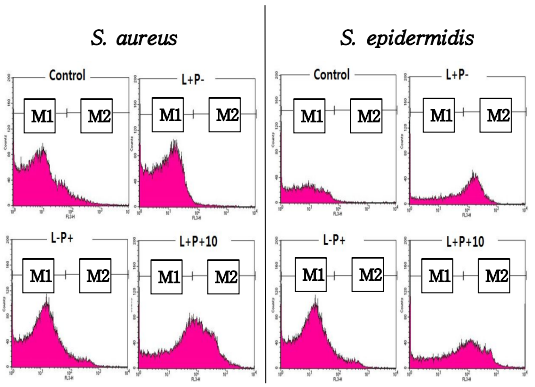
분석한 그래프에서 Marker를 표시하여 정량적으로 분석하였다. M1은 대조군에서 정상적으로 살아있는 세포를 표시하였고, M2는 형광강도가 강하고 생명력이 떨어진 것을 선택하였다. 각 그룹별로 대조군은 Control, L+P−은 LED 빛만 조사한 군, L−P+은 포토프린 또는 라다클로린 10 ㎍/㎖만을 처리한 군, L+P+10은 포토프린과 라다클로린 10 ㎍/㎖와 LED를 조사한 PDT군으로 나눴다. 포토프린을 사용한 PDT치료 결과로 *S. aureus* 분석결과로 Control과 L+P−군, L−P+군의 분석결과에서 살아있는 세포가 81.1, 85.35, 81.2% 이며, L+P+10군은 39.95% 로 분석되었다. 이것은 광독성을 나타내어 대조군과 양상이 완전히 다른 것을 보여준다. *S. epidermidis*는 Control과 L+P−군, L−P+군의 분석결과에서 살아있는 세포가 79.85, 37.09, 83.1%이며, L+P+10군은 34.38% 로 분석되었다[Fig 3].

라다클로린을 사용한 PDT치료 결과로 *S. aureus* 분석결과로 Control과 L+P−군, L−P+군의 분석결과에서 살아있는 세포가 97.87, 84.51, 87.2%이며, L+P+10군은 52.81%로 분석되었다. *S. epidermidis*는 Control과 L+P−군, L−P+군의 분석결과에서 살아있는 세포가 99.2, 72.46, 97.7%이며, L+P+10군은 69.92% 로 분석되었다 [Fig 4].

3.4 투과전자현미경적 형태분석

*S. aureus*의 대조군에는 세포벽과 세포질막이 선명한 모습으로 관찰되며 세포질내의 구조물도 특별한 변화 없이 나타났다.

그러나 포토프린과 라다클로린을 이용한 PDT가 끝난

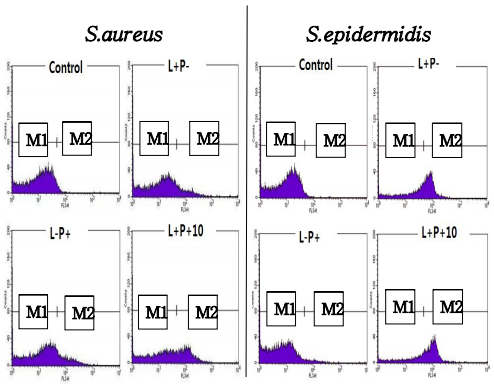


[Fig. 3] Bacterial flow cytometry analyses. The PDT was performed 630 nm LED (14.4 J/㎠) with Photofrin(10 ㎍/㎖) on bacterial suspensions. The M1 section of the histogram represents the number of viable cells and the M2 section represents the number of dead cells. As for S. aureus, M1 was 81.1% in the control group. Similar results were seen for the L+P− group and L−P+. In the L+P+10 (PDT) group, M2 was 57.58%. When the same analysis was done for S. epidermidis, M1 was 79.85% in the control group. In the L+P+10 (PDT) group, M2 was 29.26%.

*S. aureus*의 형태관찰은 세포막이 조금이라도 형태가 소실된 것이 대부분이었고 구조에 이상이 보인 것으로 관찰되었다. 그리고 치료 후의 크나 큰 형태변화는 작은 크기의 액포들이 세포막에 붙어 있는 것이다. 이런 액포들은 구조적인 이상을 보인 세균들의 상당수에서 관찰할 수 있었다.

*S. epidermidis*는 치료 전의 모습은 세포질막이 선명하게 관찰됐다. PDT가 끝난 *S. epidermidis*는 분열되는 모양이 보였고, 대부분의 세균들은 세포질막의 일부분이나 대부분이 파괴되었다. 그리고 염색상이 엷게 보이며 세포질내의 구조물이 염색이 안 된 경우가 일부 있었고, 세균들의 모습들은 세포질막 만이 탈락되어 보이는 것이 일부분이고, 막이 탈락됨과 동시에 세포질내의 구조물까지 파괴되어 세균의 형태를 알아볼 수 없을 정도로 파괴된 세균들이 대부분 관찰되었고, scale bar는 500 nm 단위이다[Figure 5].

4. 고찰 및 결론

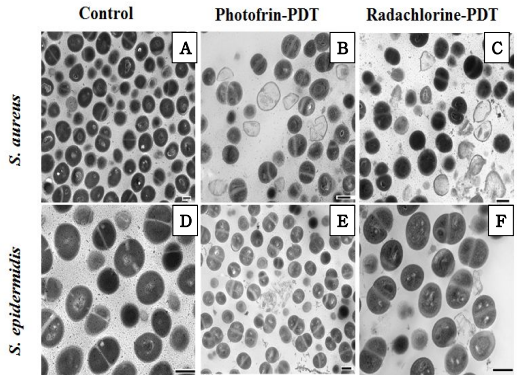


[Fig. 4] Bacterial flow cytometry analyses. The PDT was performed 670 nm LED (19.8 J/㎠) with Radachlorin (10 ㎍/㎖) on bacterial suspensions. The M1 section of the histogram represents the number of viable cells and the M2 section represents the number of dead cells. As for S. aureus, M1 was 97.87% in the control group. Similar results were seen for the L+P− group and L−P+. In the L+P+10 (PDT) group, M2 was 47.75%. When the same analysis was done for *S. epidermidis,* M1 was 99.2% in the control group. In the L+P+10 (PDT) group, M2 was 30.65%.

지금까지 이루어진 메치실린 내성 포도알균에 대해 시도되었던 체외 PDT를 보면 Wainwright 등[9]이 methylene blue를 이용한 연구가 있었으며, Usacheva 등[10]은 광감작제 toluidine blue와 methylene blue를 사용하고 광원은 Argon pumped-dye와 diode laser를 사용하여 여러 균종들의 광역학 효과를 실험하였다.

그 결과 methylene blue보다 toluidine blue가 1.5~7.0 ㎍/㎖의 농도에서 광역학 효과가 있다고 보고했다. 메치실린에 내성이 없는 포도알균에 대해서는 Golding 등[11]이 malachite green isothiocyanate 같은 물질을 이용하였다. 이와 같은 연구들은 광감작제의 주입량과 사용균주의 농도, PDT 조건들이 각기 다르며 치료 후의 감소효과를 나타내었지만 완전 살균효과를 볼 수는 없었다.

그러나 2013년 Vecchio 등[12]에 의하면 Mouse 등에 형광유전자 이입시킨 메치실린 내성포도알균을 감염시켜 항균효과 및 감염치료효과를 증명하였다. 세균에 손상을 주는 두 가지의 과정은 광역학에 의한 세균의 경우



[Fig. 5] Transmission electron microscopic findings after photodynamic therapy (PDT). In the PDT group of *S. aureus* with Photofrin(B), Radachlorin(C), partially cell morphologies were distorted, part of the cell membrane was disrupted with a leaking intracellular substance. In the PDT group of *S. epidermidis* with Photofrin(E), Radachlorin (F), bacterial cell membranes appeared partially disrupted intracellular structures leaked out of the cells. In the control group, all the bacterial cells of the three different bacteria had intact cytoplasmic membrane and intracellular structures.

치명적 손상의 중요성이 제시되어왔다. 첫 번째는 DNA의 손상이고 두 번째는 세포막 이동계통과 효소의 비활성화 세포성분의 약화에 의한 세포질의 손상이다. 그것은 다양한 광감작제와 빛이 DNA 손상을 일으켜서 세균의 비활성화에 영향을 끼치는 것으로 알려져 왔다. 단일이나 이중나선 DNA의 파괴와 그람음성균과 그람양성균이 여러 종류의 광범위한 구조형태를 지닌 광감작제와 광역학적 비활성 후에 플라스미드의 꼬여있는 부분이 나타나지 않는 것이 발견되어져왔다[13,14].

많은 선행연구들은 세균 비활성화의 가장 중요한 원인이 DNA 손상으로 사멸하는 것이 아닐지도 모른다고 주장하는 사람도 있으나, DNA 손상은 세균사멸에 결정적인 요인으로 복구 기전을 아는 것이 효과적인 광역학적 세균치료를 위한 방법이라 할 수 있다[15]. 본 연구에서도 포도알균의 치료 후 투과전자현미경적 형태관찰은 세포막이 조금이라도 형태가 소실된 것이 대부분인 것이 나타났는데 이것은 세균에 치명적 손상을 주는 두 번째 기전인 세포질의 손상으로 사멸된 것으로 사료된다. 세포막에 액포가 보이는 것으로도 DNA 손상이 있었다고 사료되고 유세포 분석에서도 핵산의 사멸된 것이 약화된 것들이 이를 뒷받침해주고 있다. *S. epidermidis*는 피부감염에 가장 많이 검출되는 CNS로서 PDT효과는 *S. aureus* 보다 좋았고, 탁월한 살균효과가 증명되었으며[16], 흥미로운 결과로는 LED 빛만을 조사한 군인 L+P- 그룹이 *S. aureus*에서는 Control과 비교할 때 CFU차이가 없었으나, *S. epidermidis*는 Control과 비교 시 CFU 결과에서도 Fig 2와 같이 집락이 감소한 것으로 결과가 나왔으며, Fig 3, 4와 같이 유세포분석 결과에서도 일부분 일치함을 나타내었다. 이는 LED 빛만을 조사하여도 비활성화가 일어남을 의미하는 것이다. 인체 적용 시 정상조직대비 암세포의 축적비가 3-30배로서 항종양 특이성이 우수하며 정상세포에 대한 영향은 거의 없는 것으로 알려져 있다. 2013년 Fu 등[17]에 의하면 광역학치료의 메커니즘이 광감작제가 세포막이나 세균안에 축적이 되어 안정된 광감작제들은 빛을 받으면 광자들의 흡수가 일어나 Reactive Oxygen Species(ROS)가 발생하는 첫 번째 단계가 일어나고 두 번째 단계는 광감작제의 들뜬 상태가 되면서 일중항상태가 되며 세균의 세포벽이나 지질막, 단백질과 효소, 핵산을 파괴시키며 자기사멸사나 괴사에 의해 세균이 죽는 것으로 설명하고 있다. 본 연구결과는 라다클로린에 의한 PDT는 100% 사멸을 보여 포토프린 보다 우수한 결과를 보였다. 포르피린 유도체인 포토프린과 클로린계열인 라다클로린이라는 광감작제와 LED빛을 조사하여 포도알균의 항균력을 발휘할 수 있는 PDT 조건을 얻었으며, LED광원의 유효성을 입증하였다.

ACKNOWLEDGMENTS

This paper (exhibition practice etc) was supported by Wonkwang Health Science University in 2013.

REFERENCES

[1] N. L. Oleinick, and H. H. Evans, The photo biology of photodynamic therapy: cellular targets and mechanism, Rad Res, Vol. 150, No. 5, pp. 146-156, 1998.

[2] M. Ochsner, New trends in photobiology of photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumors, Photochem Photobiol, Vol. 39, No. 1, pp. 1-18, 1997.

[3] N. H. Youn, S. W. Lee, J. H. Park, S. H. Cha and S. D. Park, Two cases of staphylococcal scalded skin syndrome, Korean J Dermatol, Vol. 38, No. 2, pp. 1531-1535, 2000.

[4] M. S. Kim and N. J. Kim, Antimicrobial Resistance and Treatment Update of Skin and Soft Tissue Infections, The Korean Journal of Medicine, Vol. 81, No. 6, 2011.

[5] J. H. Song, Antimicrobial Resistance in Gram-positive Cocci: Past 50 Years, Present and Future, Infect Chemother, Vol. 43, pp. 443-449, 2011.

[6] M. N. Kim, Multidrug-resistant Organisms and Health card-associated Infections. Hanyang Medical Reviews. Vol. 31, pp. 141-152, 2011.

[7] H. M. Lee, D. E. Yong, K. W. Lee, S. H. Lee, J. Y. Ahn, S. G. Hong, Y. J. Park, S. H. Jeomg, E. C. Kim, W. K. Lee, Y. Uh, J. H. Shin, T. Y. Kwak, and K. W. Lee, Antimicrobial resistance of clinically important bacteria isolated from 12 hospitals in Korea in 2004. Korean J Clin Microbiol, Vol. 81, pp. 66-73, 2005.

[8] N. Kashef, M. Akbarizare, and S. K. Kamrava, Effect of sub-lethal photodynamic inactivation on the antibiotic susceptibility and biofilm formation of clinical *Staphylococcus aureus* isolates, Photodia gnosis Photodyn Ther, Vol. 10, No. 4, pp. 368-373, 2013.

[9] M. Wainwright, D. A. Phoenix, S. L. Laycock, D. R. Wareing and P. A. Wright, Photobactericidal activity of phenothiazinium dyes against methicillin-resistant strains of S*taphylococcus aureus*, FEMS Microbiol Lett, Vol. 160, No. 2, pp. 177-181, 1998.

[10] M. N. Usacheva, M. C. Teichert, and M. A. Biel, Comparision of the methlene blue and toluidine blue photobacteriocidal effecacy against gram-negative micro organisms, Lasers Surg Med, Vol. 29, No. 2, pp. 165-173, 2001.

[11] P. S. Golding, T. A. King, L. Maddocks, D. B. Drucker, A. S. Blinkhorn, Photosensitization of *Staphylococcus aureus* with malachite green isothiocyanate: inactivation efficiency and spectroscopic analysis, J Photochem Photobial B, Vol. 47, No. 2, pp. 202-210, 1998.

[12] D. Vecchio, T. Dai, L. Huang L. Fantetti, G. Roncucci, and M. R. Hamblin, Antimicrobial photodynamic therapy with RLP068 kills methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and improves wound healing in a mouse model of infected skin abrasion PDT with RLP068/Cl in infected mouse skin abrasion, J Biophotonics, Vol. 6, No. 9, pp. 33-42, 2013.

[13] M. Capella, A. M. Coelho, and S. Menezes, Effect of glucose on photodynamic action of methylene blue in Escherichia coli cells, Photochem photobiol, Vol. 64, No. 1, pp. 205-210, 1996.

[14] M. A. Capella, and L. R. Caldas, Photodynamic action of methylene blue: repair and mutation in *Escherichia coli*, J Photochem Photobiol B, Vol. 5, No. 3-4, pp. 505-517, 1990.

[15] M. Schafer, C. Schmitz, and G. Horneck, High sensitivity of Deinococcus radiodurans tophotody namically-produced singlet oxygen, Int J adiat Biol, Vol. 74, No. 2, pp. 249-523, 1998.

[16] P. S. Kwon, Antimicrobial Effect of Photodynamic Theraphy using Photofrin Against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, The Korea Contents Association, Vol. 13, No. 2, pp. 314-321, 2013.

[17] X. J. Fu, Y. Fang, and M. Yao, Antimicrobial photodynamic therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Biomed Res Int. 2013, Vol. 2013, Article ID 159157, 2013.

서 충 원(Seo, Choong Won)

- 2008년 2월 : 건양대학교 보건대학원(보건학 석사)
- 2014년 2월 : 건양대학교 보건대학원(이학박사 수료)
- 2011년 9월 ~ 현재 : 서남대학교 임상병리학과 조교수
- 관심분야 : 병원미생물학, 진균학, 임상병리학

- E-Mail : kpnseo@hanmail.net

류 재 기(Ryu, Jae Ki)

- 1996년 2월 : 건국대학교 미생물공학과(공학석사)
- 2012년 2월 : 계명대학교 생물학과(이학박사)
- 2006년 2월 ~ 현재 : 김천대학교 임상병리학과 교수
- 관심분야 : 병원미생물학, 임상병리학

- E-Mail : rs0429@hanmail.net

권 필 승(Kwon, Pil-Seung)

- 2006년 2월 : 단국대학교 의학레이저 미생물전공(이학석사)
- 2009년 2월 : 단국대학교 의학레이저의학전공(의학박사)
- 2009년 2월 ~ 현재 : 원광보건대학교 임상병리과 교수
- 관심분야 : 임상세균학, 의학레이저, 임상병리학

- E-Mail : pskwon@wu.ac.kr