

금 나노입자를 이용한 광열치료 연구 동향

김봉근 · 여도경 · 나현빈[†]

명지대학교 화학공학과
(2017년 5월 2일 접수, 2017년 5월 30일 심사, 2017년 7월 5일 채택)

Research Trends in Photothermal Therapy Using Gold Nanoparticles

Bong-Geun Kim, Do Gyeong Yeo, and Hyon Bin Na[†]

Department of Chemical Engineering, Myongji University, 116 Myongji-ro, Cheoin-gu, Yongin,
Gyeonggi-do 17058, Republic of Korea
(Received May 2, 2017; Revised May 30, 2017; Accepted July 5, 2017)

초 록

광열치료는 빛을 받아 열로 변환하는 광열특성을 가진 광열변환기를 통해 세포의 병변, 특히 암세포를 선택적으로 사멸시키는 치료법이다. 광열특성을 가지는 다양한 물질들이 광열치료에 적용되어왔지만, 그중에서도 금 나노입자는 그 고유한 물리화학적 특성으로 지난 20년 가까이 과학자와 의료인들에게 큰 관심을 받아왔다. 본 총설에서는 금 나노입자를 사용하여 광열치료효과를 향상시키기 위한 전략들을 최근의 광열치료 연구를 중심으로 정리하여 서술하였다. 특히, 광열변환기로서 사용되는 다양한 금 나노입자 구조체의 합성 및 광학 성질 제어를 통해 광열변환 효율 향상을 시도한 연구들과 금 나노입자를 병소에 효과적으로 축적시키기 위한 선별적 전달 방법들을 논의하였으며, 마지막에는 근래에 적극적으로 시도되고 있는 다른 치료법 및 진단기술과의 융합 연구들을 소개했다.

Abstract

The photothermal therapy is a method of cell ablation using the heat converted from the incident light by photothermal transducers. It offers a selective treatment to desired abnormal cells, in particular, tumor tissues. Among various photothermal agents, gold nanoparticles (Au NPs) have received enormous attention due to their unique physicochemical property over last two decades. In this review, we address research strategies and methods to improve treatment efficacy by organizing recent research works. We mainly focus on research works to enhance light-to-heat conversion via optimizing the morphology of Au NPs and related assemblies as well as the strategies to deliver Au NPs efficiently to specific targets. We also introduce convergence research efforts to combine Au NP-mediated photothermal treatment and other functions such as diagnostic capabilities and other therapeutic methods.

Keywords: photothermal therapy, gold nanoparticles, theranostics

1. 서 론

광열치료(photothermal therapy)는 빛을 조사해 열을 발생시킴으로써, 국소적인 가열을 통해 비정상적인 세포, 특히 암세포를 선택적으로 사멸시키는 치료법이다[1-3]. 정상세포와 비교해서 빠르게 자라나는 암세포는 혈액의 공급이 좋지 못해 열에 대한 저항성이 나쁘므로, 열은 암세포를 선별적으로 사멸시킬 수 있는 효율적인 도구라 할 수 있다[4]. 그러나 열을 발생시키기 위해 고출력의 레이저를 직접 피부에 조사한다면 과열로 인한 화상, 수포, 통증과 같은 병리적인 현상을 야기할 수 있다. 레이저에 의한 열 발생은 조사 시간과 온도에 의해

결정되므로 이 두 요소의 조합이 문턱값 이하로 유지된다면 피부 손상을 피할 수 있으나 그렇게 된다면 병소에서 열이 제대로 발생되지 않아 암세포 또한 사멸하지 않을 가능성이 크다[5]. 때문에 광열치료를 진행하기 위해서는 통상 빛을 열로 변환시키는 광열특성을 가진 물질이 치료의 매개체로 사용되며, 이러한 용도의 물질을 광열변환기(photothermal transducer)라고 한다[3,6,7].

광열치료에 광열변환기로서 적용되는 물질은 일단 높은 효율로 빛을 흡수해서 열로 변환시킬 수 있도록, 호응하는 파장 영역에서 몰소 광계수와 흡수단면적(absorption cross section)이 커야 한다[8,9]. 다음으로는 암세포에 선택적으로 광열변환기를 축적시킬 수 있도록 표적 지향(targeting) 물질 등의 생체활성 물질로 표된 처리가 용이해야 한다. 또한 10-100 nm 정도의 적당한 크기 영역에 위치해야 혈액 속에서의 반감기가 늘어나고 세망내피계에 의한 제거를 감소시킬 수 있으며, 중앙 혈관벽을 넘어갈 가능성도 커진다[10-13]. 마지막으로 광열변환기 자체가 생친화성을 가져야 한다. 다양한 물질들이 광열변환기

[†] Corresponding Author: Myongji University,
Department of Chemical Engineering, Myongji University, 116 Myongji-ro,
Cheoin-gu, Yongin, Gyeonggi-do, 17058, Republic of Korea
Tel: +82-31-324-1304 hyonbin@mju.ac.kr

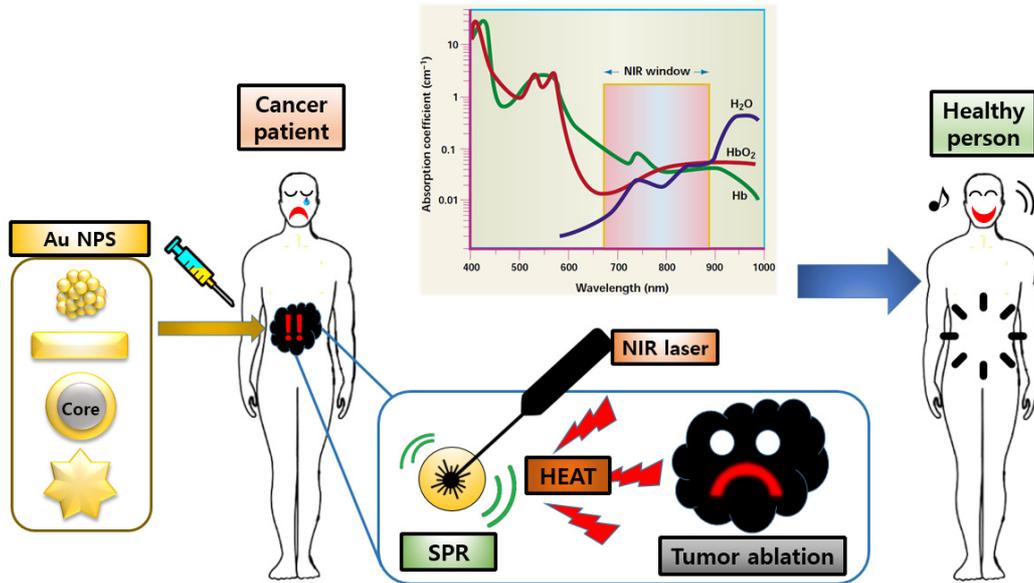


Figure 1. Schematic diagram of photothermal therapy using gold nanoparticles. An inset represents the NIR window for *in vivo* treatment because of minimal light absorption by hemoglobin and water[22]. (AuNPs : gold nanoparticles, NIR : near infrared, Hb : hemoglobin, SPR : surface plasmon resonance) Reprinted with permission from ref.[22].

로서 광열특성을 가지지만 현재 가장 활발하게 사용되는 물질은 금 나노입자이다.

금 나노입자에서의 광열변환은 국소화된 표면 플라즈몬 공명 (localized surface plasmon resonance, LSPR)에 의한 것이다. 나노미터 크기의 금이나 은과 같은 귀금속 입자가 나타내는 독특한 광학적 현상인 LSPR은 금 나노입자 표면 전도 전자(conduction electron)들의 분극과 집단적인 동위상 이중극자 진동(in-phase dipole oscillation)에 의해 일어난다[14]. 금 나노입자의 LSPR 파장에 일치하거나 가까운 파장의 빛이 금 나노입자에 조사되었을 경우 이러한 빛과 입자 간의 상호작용이 일어나는데, 이 LSPR 현상에 의해 나노입자 주위에 강력한 전자기장이 형성되고, 그에 따라 흡수나 산란과 같은 모든 복사성 특성이 증진된다[3,9]. 이때 복사성 특성의 증진과는 별개로, 전자와 전자, 전자와 포논, 포논과 포논 간의 충돌을 포함하는 일련의 비복사 기전(non-radiative mechanism)을 통해 흡수된 빛이 열로 변환되는 것이다[15,16].

금 나노입자는 LSPR 파장을 입자의 크기, 모양, 구조를 변형시키거나 이러한 요소들을 조합함으로써 쉽고 정밀하게 조절할 수 있다는 특징을 가진다[8,9,16]. 그리고 유기 염료 분자에 비해 약 백만 배 정도 많은 빛을 흡수할 수 있고, 흡수한 빛을 거의 100% 열로 변환한다[17]. 또한 입자 표면을 화학적으로 개질하기도 쉬우며[18], 금 자체가 화학적으로 비활성이기 때문에 유의미한 정도의 세포독성을 나타내지 않는다[19].

특히 금 나노입자 광열변환기를 매개로 하는 광열치료는 수술, 방사선치료, 화학치료와 같은 전통적인 암 치료 전략에 비해 덜 침습적이라는 강점을 가진다[3,9,20,21]. 전체 과정이 몇 분 정도의 짧은 시간 안에 종료되며, 처치 도중에 출혈과 같은 소모적인 현상이 일어나지 않아 환자의 체력적 부담을 경감시킬 수 있고 치료 후 회복기간도 단축된다. 또한 수술로 제거하기 힘든 극미세한 크기의 종양을 효율적으로 처리할 수 있다는 점도 언급할 만하다.

이와 같은 광열치료 과정에는 광열변환기 외에도, 열로서 변환될

에너지를 공급해주는 광원이 필요한데, 일반적으로 생체의 조직을 잘 투과할 수 있는 특성을 가진 근적외선(near-infrared, NIR), 그중에서도 650-900 nm 영역의 빛이 선호된다. 조직의 종류에 따라 다르지만, 짧게는 몇 밀리미터에서부터, 연조직의 경우에는 보통 4-10 cm의 깊이까지 투과가 이루어질 수 있다. 이처럼 NIR 영역의 빛이 조직을 잘 투과하는 것은 생체 내에 상존하는 조직 발색단인 헤모글로빈이나 물 등의 광학적 감쇠 계수(optical attenuation coefficient)가 해당 파장 영역에서 낮은 값을 가지기 때문이다. 그 결과 NIR 영역의 빛은 헤모글로빈이나 물에 의한 흡수가 잘 이루어지지 않는다(Figure 1). 이러한 특성 때문에 해당 파장의 빛 영역을 투명 창문(transparent window)과 같은 표현을 통해 지칭하기도 한다[3,21,22]. 따라서 NIR 파장의 빛을 광열치료에 사용하면 레이저 자체에 의해 정상 조직이 가열될 가능성을 줄이면서 신체의 보다 깊은 영역에 위치한 암세포에도 광열치료를 진행할 수 있다[21]. 그중에서도 800 nm 대 초반 파장을 가지는 빛이 대부분의 연구에서 사용되고 있다.

이러한 요소들이 조합된 광열치료는 2000년대 초반부터 연구가 시작되어 화학, 재료, 생명, 의학 등 다양한 연구분야를 망라하는 융합연구로 발전해 현재 미국 FDA의 승인을 받은 AuroLase[®]와 같은 제품을 중심으로 전임상 및 임상 단계의 연구가 진행되고 있다[23]. 본 총설에서는 최근 3년간의 연구 성과들을 중심으로 금 나노입자를 암세포를 대상으로 한 광열치료에 효과적으로 응용하기 위한 접근방법 및 실제 사례들을 기술하고자 한다.

2. 본 론

2.1. 광열치료 효과 증진을 위한 고려 요소

광열치료를 효과적으로 수행하려면 서로 얽혀 있는 다양한 요소들을 고려해야 한다. 이상적인 광열치료란 정상 조직에 대한 손상을 최소화하면서 병든 조직들을 재생의 여지가 없도록 완벽하게 제거하는 것으로, 이를 위해 우선 필요한 것은 우수한 광열특성을 가지면서 생

체에 활용하기 적합한 금 나노입자를 설계하는 것이다. 금 나노입자의 광열변환 특성이 좋지 않다면 반대급부로 강력한 출력을 가지는 레이저가 필요해 정상 세포에 악영향을 줄 수 있으며, 금 나노입자를 합성하는데 사용된 은 등의 독성 물질들이 잔존할 경우 정상 세포에 손상을 줄 수 있다. 또한 금 나노입자의 생체 내 분포를 제어할 수 있어야 한다. 병소 특이성을 가지지 못해 금 나노입자가 정상 조직에도 유효 농도 이상으로 축적된다면 광열치료를 진행할 때 정상 조직에 손상이 가해질 수 있고, 이러한 축적이 장기화되었을 경우 독성학적 작용에 의해 마찬가지로 건강한 조직에 악영향을 미칠 우려가 있다. 반대로 병소에만 금 나노입자가 선별적으로 축적되었을 경우라도 중앙 전체에 고르게 분포되지 못했다면 국소적인 결과과 그에 따르는 열전도에 의해 정상 조직이 파괴될 수 있으며, 열이 미치지 않아 잔존하게 된 암 조직에 의해 광열치료 후 종양이 재생되는 것과 같은 문제점이 발생할 수 있다.

이처럼 효율이 높은 광열변환기로서 금 나노입자를 설계하는 것과, 그렇게 만들어진 금 나노입자를 목표로 하는 병소에 선별적으로, 고르게 분포시키는 것은 매우 중요한 문제이다. 그러나 이 두 요소가 만족되더라도 부수적인 부작용들이 따라올 수 있다. 예를 들어 광열치료에서 세포는 세포자멸사(apoptosis), 괴사(necrosis), 자가소화(autophagy)를 포함하는 다양한 방식으로 사멸하는데, 암세포가 광열치료에 노출된 후 괴사의 기전을 따라 사멸할 경우 세포질과 소기관의 조직간 누출로 염증이 유발될 수 있다[24,25]. 염증은 암의 재발과 전이에 관여되기 때문에 피해야 할 문제이며, 이러한 이유로 광열치료에서는 염증 문제가 부수되지 않는 세포자멸사를 유도하는 것이 선호된다[26,27]. 이 괴사는 50 °C 이상의 높은 온도에서 발생되므로 결국 괴사와 세포자멸사는 세포에 열이 얼마나 가해지는가에 의존한다[28]. 통상 42-45 °C의 낮은 온도가 미토콘드리아-매개 카스파제 활성화 경로를 통해 세포자멸사와 관련된 유전자를 발현시킨다고 알려져 있다[29]. 세포 사멸이 어떠한 기전을 통해 일어나는가는 암세포의 종류나 치료 전략의 형태와도 연관되는데, 이와 관련하여 최근 세포사멸의 분자적 기전과 관련된 이론적 연구들이 몇 가지 보고되었다.

Aioub 등은 구형 금 나노입자에 의한 광열치료 과정 동안 대상이 된 단일 세포의 분자적 변화를 표면증강라만산란(surface enhanced Raman scattering, SERS)으로 실시간 추적해 세포의 지질과 단백질 구조에 변형이 일어나는 것을 관측했고, 이런 변형이 특정 범위 내에서는 나노입자의 농도나 레이저의 세기에 의존하지 않고 항상 동일한 형태로 일어난다는 사실을 확인했다[30]. Gamal-Eldeen 등은 아라비아검(gum arabic)으로 둘러싸인 구형 금 나노입자로, 디에틸니트로사민(diethylnitrosamine)에 의해 유도된 쥐 간세포의 전암성병변(preneoplastic lesion)에 대해 광열치료를 적용한 뒤 면역학적 기법을 통해 세포 사멸의 분자 기전을 밝혔고 그 결과 광열치료 시 암세포가 죽음수용체 DR5 (death receptor DR5)와 카스파제-3의 활성화를 통한 외인성 세포자멸사를 겪는다는 점을 확인했다[31].

Ali 등은 금 나노막대를 통한 광열치료 과정을 실시간 SERS로 추적하고 그 결과를 질량분석기를 통해 대사체학(metabolomics)과 단백질체학(proteomics)의 관점에서 분석했다. 광열치료 동안 SERS 스펙트럼 상에서 1000, 1207 및 1570 cm^{-1} 밴드들의 세기가 증가하는 것이 확인되었는데, 이를 페닐알라닌과 그 유도체들의 농도증가에 대응하는 것이라 해석하였다. 증가된 페닐알라닌은 Rho/ROCK 경로를 통한 미토콘드리아-매개 세포자멸사와 Fas/Fas 리간드-매개 세포자멸사에 관여하므로, 광열치료 시 증가된 페닐알라닌과 그 유도체들이 이러한 경로를 거치는 세포자멸사에 유의미한 영향을 미칠 수 있다고 보았다. 그

외에 리소좀, 시토크롬 c, 기타 아미노산과 연관된 경로에서도 세포자멸사를 촉진했다고 판단될 정도의 유의미한 변동이 확인되었다[32].

Zhang 등은 삼중음성유방암을 표적지향하기 위해 항-상피세포성장인자수용체 항체(anti-epidermal growth factor receptor antibody)를 부착한 금 나노막대(gold nanorods)를 가지고 진행된 광열치료에서 세포 사멸의 분자적 기전을 자가소화작용을 통한 세포자멸사 (autophagic cell death)라 기술했다. 실제로 자가소화작용의 억제제인 3-메틸아데닌(3-methyladenine)을 광열치료 전 대상 암세포에 처리하면 이를 처리하지 않은 세포에 비해 광열치료 이후 사멸하는 세포의 비율이 줄어들었고, 광열치료 진행 시 자가소화와 관련된 소포 (autophagic vesicles)인 오토파고솜(autophagosome)과 자가소화과정에 특이적으로 관여하는 단백질들인 LC3 (microtubule-associated protein light chain 3), p62, beclin-1, Atg5 (autophagy-related gene-5)의 양이 큰 폭으로 증가하는 것이 확인되었다[29].

Parida 등은 단독으로는 세포자멸사를 유발하는 것으로 알려진 약물인 GW627368X를 사용해 광열치료와 화학적치료를 통합했을 때 프로그램화된 괴사(necroptosis)의 지표 단백질인 RIPK1, RIPK3, MLKL1의 농도는 증가한 반면, 세포 사멸에는 관여해도 프로그램화된 괴사와는 관련이 없는 카스파제-3, 9, 8의 농도는 변화가 없다는 것을 보고 해당 조건에서 세포가 프로그램화된 괴사의 기전으로 사멸한다는 것을 밝혔다[33].

전술한 요소 외에 암세포의 열충격에 대한 생리적인 방어 기전도, 효과적인 광열치료를 저해하는 요소로서 작용한다[34]. 이러한 다양한 문제점들을 극복하고 우수한 치료 효과를 갖는 광열치료 전략을 구성하기 위해 최근 3년간 다음과 같은 시도들이 있어왔다.

2.2. 금 나노입자 광열변환 효율 향상

금 나노입자는 공명하는 LSPR 파장에 해당하는 빛을 흡수해 열로 변환하므로, 그 광열변환 특성은 LSPR 파장에 의존적이다. 전술한 것처럼 NIR 영역의 빛이 광열치료를 위해 사용되기 때문에 광열치료를 위한 금 나노입자는 결국 NIR 영역의 빛과 공명하는 특성을 가져야 한다. 기본적으로 금 나노입자의 LSPR 파장은 해당 나노입자의 직경에 의존하는데, 예를 들어 직경이 50 nm 이하인 구형 금 나노입자는 520 nm 인근의 가시광선을 주로 흡수한다[35,36]. 그러므로 흔히 비등방성 금 나노입자가 광열치료 목적으로 사용되며, 구형의 금 나노입자를 광열치료에 사용하는 경우에는 이 구형 금 나노입자들을 한데 모아 클러스터 형태로 만드는 방식이 선호된다. Figure 2에 광열치료에 주로 사용되는 비등방성 나노입자의 형태와 대응되는 흡광 스펙트럼을 정리하였으며, Table 1에는 각 비등방성 나노입자의 합성법과 합성에 사용된 형태 결정 물질을 요약하였다.

구형의 금 나노입자를 서로 인접시킴으로써 LSPR의 짝지움(coupling) 효과를 유도하는 연구들은 최근에도 꾸준히 시도되고 있는데, 이런 연구들의 기본 개념은 구형 금 나노입자들을 완전히 응집시키는 것이 아니라 수 나노미터의 간격을 두고 가까이 배열시킴으로써 플라즈몬 짝지움을 일으키는 것이다. 이러한 플라즈몬 짝지움이 존재한다면 광열효과에 의해 열을 생성하는데 더 적은 에너지가 필요하게 된다[37]. 작은 구형 금 나노입자는 가시광 영역을 흡수하지만 플라즈몬 짝지움에 의해 전체 나노입자 구조체의 LSPR 파장을 광열치료에 보다 적합한 NIR 영역으로 이동시키면 광열치료에 응용하는 것이 가능해진다[38].

Iodice 등은 복수의 6 nm 구형 금 나노입자를 poly(lactic acid-co-glycolic acid) (PLGA) 중심부와 표면의 lipid-PEG 단일층으로

Table 1. Synthesis Methods of Anisotropic Gold Nanoparticles for Photothermal Therapy

Form of nanoparticle	Fabrication method	Structural directing material	Ref.
Aggregation of AuNSs	Incorporation in polymer	PLGA/lipid-PEG	[39]
	Self-assembly	Cellulose acetate membrane	[37]
	Self-assembly	BSA, Doxorubicin	[38]
	Light-triggered crosslinking	Diazirine modified AuNSs	[40]
Gold nanostar	Seed-mediated growth	AgNO ₃	[57]
Dendritic nanoparticle	Seed-mediated growth	Long chain primary amines	[58]
Gold nanorod	Seed-mediated growth	CTAB, NaOL	[48]
	Seed-mediated growth	PSS functionalized graphene oxide	[59]

* AuNSs : gold nanospheres, PLGA : poly(lactic acid-co-glycolic acid), PEG : poly(ethylen glycol), BSA : bovine serum albumin, PVP : poly(vinylpyrrolidone), CTAB : cetyltrimethylammonium bromide, NaOL : sodium oleate, PSS : polystyrene sulfonate

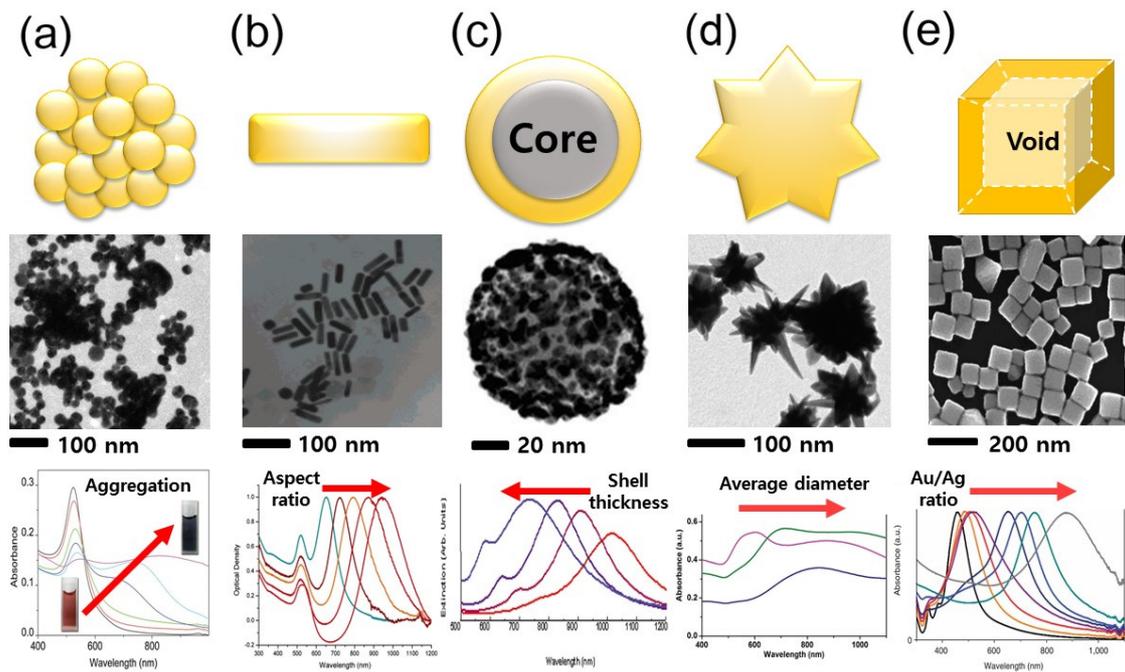


Figure 2. The morphologies, TEM images and extinction spectra of representative gold nanoparticles for photothermal therapy. (a) Gold nanosphere clusters[40], (b) gold nanorods[16], (c) gold nanoshells[50], (d) gold nanostars[53] and (e) gold nanocages[47]. Reprinted with permission from refs.[40,16,50,53,47].

구성된, 보다 큰 구형의 고분자 나노구조체 내부에 담지한 복합체를 만들고 이것을 유방암 세포인 SUM-159와 다형성 교모세포종의 종양 스페로이드(tumor spheroid)인 U87-MG에 *in vitro*로 적용시켰다. 내부의 금 나노입자 양을 증가시키면 금 나노입자가 서로 인접함으로써 LSPR 파장이 NIR 영역에 해당하는 장파장 쪽으로 이동하여 같은 NIR 파장의 레이저 조건에서 시간에 따른 온도 증가폭이 향상되었다 [39]. Paterson 등은 생광물화 과정에서 아이디어를 얻어 시트레이트 이온으로 안정화된 구형 금 나노입자를 생친화성을 가지는 셀룰로오스 아세테이트 막을 통해 단순히 거르는 조작만으로 독성 물질이나 유기 용매의 사용 없이 자기조립을 유도하였다. 생성된 쌓기 블록 (building block)이 결정학적으로 배열된 초입자(supraparticle)를 합성하고, 이를 PC3 암세포를 대상으로 한 *in vitro* 실험에 적용해 우수한 광열변환 특성을 보았다[37]. Xia 등은 용액 중에서 시트레이트 이온으로 안정화된 구형 금 나노입자와 소혈청알부민(bovine serum albu-

min, BSA)의 복합체를 형성시킨 다음 독소루비신을 첨가해 가리움 효과로 응집되게 한 후 에탄올을 첨가함으로써 금 나노입자를 자기조립시켜 3차원 플라즈몬 조립체를 합성하는 전략을 보고했다[38]. Cheng 등도 작은 구형 금 나노입자의 표면을 405 nm 파장의 빛이 조사되면 반응성이 높은 카벤(carbene)으로 전환되어 주변의 리간드와 공유결합을 하게 되는 다이아지린(diazirine) 말단기로 덮어 *in vivo*에서 보다 큰 조립체로 가교결합시키는 전략을 소개했다. 이 연구는 쥐의 4T1 세포를 대상으로 한 *in vivo* 실험에서 정맥 내 주입을 통한 수동적 표적지향 능력을 보였으며, 빛이 닿는 부분에서만 가교결합 현상이 일어나기 때문에 높은 선택성을 가졌다[40].

구형 금 나노입자의 응집된 클러스터 형태 외에, 입자 자체가 비등방성인 나노껍질(nanoshell), 나노별(nanostar), 나노막대(nanorod), 나노십자가(nanocross), 나노케이지(nanocage), 나노헥사포드(nanohexapod), 속이 빈 나노껍질(hollow nanoshell) 등 다양한 형태의 금 나노입자들

이 NIR 영역의 빛을 통해 암을 치료하는 데 활용되어왔다[41]. 현재 실리카 중심체(core)를 가지는 금 나노껍질인 AuroLase[®] (Nanospectra Biosciences, Inc., 미국)가 미국 FDA 승인 하에 두경부의 종양이나 폐의 종양 등을 대상으로 임상 및 전임상 단계에서 연구가 진행 중이다[23,42], 최근의 문헌 상에서 가장 흔히 광열치료에 적용되는 종류는 금 나노막대였다.

금 나노막대는 높은 흡수 대 산란비를 가지고, NIR 영역에서의 광학적 흡광 계수도 높다[43]. 그리고 대량 합성도 상대적으로 용이하며, 합성 결과물의 형태도 균일하다[44-46]. 금 나노막대는 가로-세로 비의 변화에 따라 흡광 영역이 정밀하게 조절되기 때문에, 합성되어 나온 결과 입자들의 형태가 균일하다는 것은 광학 성질이 일정한 입자를 대량으로 얻을 수 있다는 의미로, 이는 광열치료에 있어 강력한 강점이 된다. 금 나노막대와 함께 광열치료에 흔히 사용되는 종류인 금 나노케이지는 금 나노막대보다 작은 광흡수단면적을 가지며, 합성 후 구조 내부에 은이 잔존하여 세포독성을 나타낼 수 있다[35,47]. 금 나노껍질의 경우도 금 나노막대보다 광흡수단면적과 흡광 효율이 나쁘고, 광열효율도 좋지 않아 입자 질량 당 6배 느리게 가열된다[1,35,43,48]. 금 나노껍질은 크기가 통상 100 nm보다 크기 때문에 세망내피계를 통해 제거되기 쉬워 혈장 체류 반감기도 더 짧다[49]. 또한 금 나노껍질은 중심의 직경과 껍질의 두께에 따라 그 광학적 성질이 달라지는데, 합성 시 이를 균일하게 맞추기가 힘들다[35,50-52]. 금 나노별은 전체적인 크기나 가시의 형태에 따라 광학성질이 달라지므로 이들 요소를 조합함으로써 NIR 영역의 흡광을 부여하거나 광열변환효율을 제어할 수 있다. 금 나노별을 젤라틴 스카폴드(scaffold)에 담지해 광열치료 능력을 평가한 연구를 통해 금 나노별 또한 구조와 농도에 따라 금 나노막대에 상응하는 광열치료 능력을 가질 수 있음이 보고되었다[53]. 그러나 흡광 특성 및 광변환효율이 가시의 개수 및 구조에 의존하여 변화하는데 반해, 상대적으로 재현성 있는 입자의 생산이 어려워 대량 생산에 한계를 갖는다는 단점이 있다[54].

전통적인 합성법인 씨앗-매개 성장법(seed-mediated growth)을 통해 금 나노막대를 만들 경우 세포독성을 가지는 양이온성 계면활성제인 브로민화 세트리모늄(cetrimonium bromide)이 흔히 사용된다는 점이 문제이지만 이는 적절한 표면개질을 통해 효과적으로 배제될 수 있다[55]. 금 나노막대를 사용하는 광열치료는 현재 개와 고양이의 젖샘(mammary gland)에 자연적으로 발생한 종양을 대상으로 *in vivo*에서 종양 내 주입(intratumoral injection)으로 광열치료를 진행하는 정도까지 진전이 이루어졌으며, PEG로 안정화된 금 나노막대를 사용해 2주의 간격을 두고 금 나노막대의 양을 점차 줄여가며 총 세 차례에 걸쳐 광열치료를 진행한 결과 간과 신장의 손상 없이 암세포가 완전히 제거되었고, 1년 후 추적조사를 했을 때도 암의 재생이 관측되지 않았다는 결과가 얻어졌다[56]. 그러나 이러한 상대적인 장점에도 불구하고 사람을 대상으로 하는 임상치료를 금 나노막대를 적용하기 위해서는 독성이나 *in vivo*에서의 전달 효율 등 개선해야 할 측면이 아직도 많이 존재한다. 이러한 맥락에서 금 나노막대는 물론 다른 종류의 비등방성 금 나노입자에 대해서도 여전히 지속적인 연구가 이루어지고 있는 실정이다.

최근 비등방성 금 나노입자의 성능을 향상시키거나 보다 간단히 합성할 수 있는 방법을 보고한 연구결과들이 몇 가지 발표되었다. Liu 등은 계면활성제를 사용하지 않고 금 나노별을 합성할 수 있는 새로운 씨앗-매개 성장법을 소개했다. 그리고 이렇게 만들어진 금 나노별을 SERS, 컴퓨터 단층촬영(computed tomography, CT), 이광자광학(two-photon luminescence, TPL) 영상, 광열치료 등을 동시에 진행할

수 있는 다기능성 탐침으로 활용해 쥐의 원발성 육종을 모델로 하여 그 효용성을 보았다[57]. Qiu 등은 긴 사슬의 아민 화합물을 구조를 결정해주는 성분으로 사용해서 나뭇가지형(dendritic) 나노입자를 만드는 새로운 씨앗-매개 성장법을 보고하였는데, 간단히 유기 용매의 종류 및 아민 분자의 종류와 농도만을 바꿔줌으로써 가지치기 정도(degree of branching)를 정밀하게 조절할 수 있었다. 합성된 입자는 기존의 금 나노막대에 비해 넓은 표면적과 높은 몰소광계수를 가졌으며, 가지치기 정도에 따라 흡광 및 광열치료 파장을 조절하는 것이 가능했다[58]. Li 등은 산성조건에서 씨앗을 사용하지 않고 단반에 성장시키는 새로운 방법을 통해 7 nm 직경을 가지는 금 나노막대를 합성하고, BSA로 표면 개질한 다음 이를 대식세포를 운반체로 이용해 종양으로 전달한 연구결과를 발표했다. 이렇게 작은 직경의 금 나노막대는 14 nm의 직경을 가지는 기존의 일반적인 금 나노막대와 유사한 LSPR 파장과 광열효과를 가지면서도 생체화성과 대식세포에 의한 섭취 효율은 더 우수했다[48]. Sun 등은 산화그래핀을 폴리스티렌 설프오네이트(polystyrene sulfonate)로 개질한 다음 금 씨앗과 섞고, 여기에 씨앗-매개 성장법을 적용해 금 나노막대를 산화그래핀 위에 성장시키는 합성법을 소개했는데, 이런 방식을 통해 미리 합성된 금 나노막대를 산화그래핀 위에 올렸을 때 응집이 일어나는 기존 합성법의 문제점을 해결할 수 있었다. 산화그래핀 위에 금 나노막대를 올리면 광학적, 형태학적인 측면에서 강한 안정성이 확보되어 반복적인 광열치료가 가능해지며, 본 연구의 경우 NIR 파장의 빛을 여섯 차례 조사해 안정성을 검증했다. 또한 산화그래핀은 열전도성이 좋아 광열변환에 의해 생성된 열을 잘 전달할 수 있어 국소적인 과열을 막을 수 있고, 그 자체로도 광열특성을 가져 금 나노막대와 상승효과를 나타냈다[59].

금 나노입자의 광열거동에 대한 이론적인 수학적 모델을 구성한 연구들도 있다. Hatef 등은 물에 분산된, 40 nm의 직경에 3 nm의 껍질 두께를 가지는 금 나노케이지의 광열 특성과 온도 프로파일 변화를 유한요소법(finite element method)과 열방정식을 통해 수학적으로 다룰 수 있는 모델을 만들었다. 레이저의 조사 방식을 연속파(continuous-wave, CW), 나노초 펄스파, 펨토초 펄스파로 구분하여 각 조사 방식에 따라 금 나노케이지의 광열 거동에 나타나는 차이를 비교하였는데, CW 레이저를 가하면 금 나노케이지는 흡수한 에너지의 일부를 온도 상승 없이 주변으로 잃어버리며 온도가 천천히 오르는, 광열치료나 열에 의한 약물 방출에의 응용에 적합한 거동을 보였고, 반면 펄스 타입을 적용했을 때는 온도가 빠르게 올라 금 나노케이지 주변에 높은 밀도의 에너지가 필요한 광음향 영상법(photoacoustic imaging, PAI)이나 유전자 침묵(gene silencing)과 같은 응용 분야에 적합한 모습을 보였다[60]. Ren 등도 이론적인 연구를 통해 레이저에 의한 주기적 가열(periodic heating)을 사용하는 광열치료에 개제되는 여러 요소들의 관계성을 밝혔다. 광열치료 시 금 나노입자의 도움을 받으면 레이저에 의해 정상 조직이 직접 가열되는 것은 피할 수 있지만, 가열된 종양으로부터 주변 조직으로 열이 전도되는 것은 막을 수 없기 때문에 주변의 정상 세포에 손상을 야기하는 표면과열 현상이 발생한다. 이를 막기 위해 크게 두 가지 방식으로 연구가 진행되어왔는데, 하나는 강제적인 표면 냉각이다. 최근 수냉식 냉각 시스템과 자동 온도 조절 시스템이 결합된 기계를 쥐의 피부에 부착한 상태에서 림프질의 종양에 대해 금 나노막대로 광열치료를 시도하고 주어진 조건에서 표적 위치의 온도와 손상 영역을 계산하는 수치적인 모델을 구성한 연구가 보고되었지만[5], 이런 방식은 복잡한 기계가 필요하고 심부의 종양에는 적합하지 않다는 단점이 있어 활발하게 연구가 진행되지는 않는다. 다른 방법은 가열을 여러 방식으로 시도하는 것인데, 이러한 맥락에서

Table 2. Summary of Targeting and Enhancement Materials to Deliver Au Nanoparticles to Targets

Targeting strategy	Targeting or enhancement material	Target	Ref.
Active targeting	RGD/NLS peptides	<i>in vitro</i> : Human oral squamous carcinoma (HSC-3)	[30]
	Anti-EGFR antibody	<i>in vitro</i> : Triple negative breast cancer (MDA-MB-231) <i>in vivo</i> : Mice models of triple negative breast cancer (MDA-MB-231-Luc)	[29]
	Trastuzumab	<i>in vitro</i> : HER2-positive breast cancer (BT474 and SK-BR-3) <i>in vivo</i> : Mice model of breast cancer (BT474)	[80]
Passive targeting	Amine/carboxylic terminated PEG	<i>in vitro</i> : Human cervical carcinoma (HeLa) <i>in vivo</i> : Mice models of breast cancer (4T1)	[73]
	Triangular DNA-AuNR	<i>in vitro</i> : 4T1-fLuc cell <i>in vivo</i> : Mice models of breast cancer (4T1-fLuc)	[74]
Using delivery vehicle	Mesenchymal stem cell	<i>in vivo</i> : Mice models of human fibrosarcoma (HT-1080)	[75]
	iPS cell	<i>in vitro</i> : Human gastric cancer (MGC803) <i>in vivo</i> : Mice models of MGC803	[76]
		<i>in vitro</i> : MGC803 <i>in vivo</i> : Mice models of MGC803	[72]
Direct injection	Poly(F127) hydrogel	<i>in vitro</i> : Murine liver hepatocellular carcinoma (HepG2) <i>in vivo</i> : Mice models of hepatocellular carcinoma	[77]
	Porous gelatin	<i>in vitro</i> : Human cervical carcinoma (HeLa)	[53]

* RGD : arginylglycylaspartic acid, NLS : nuclear localization signal, EGFR : epidermal growth factor receptor, HER2 : human epidermal growth factor receptor 2, PEG : poly (ethylen glycol), iPS : induced pluripotent stem

Dombrovsky 등에 의해 레이저가 꺼져 있는 동안 과열된 조직이 냉각될 수 있도록 안배한 주기적 가열 방식이 도입되었다[61]. 그러나 주기적 가열 방식은 조직 내부에는 큰 영향을 미치지 못한다는 단점이 있다. 그래서 이러한 문제에 대응하기 위해서는 주기적 가열을 사용하는 광열치료에 관여되는 여러 요소들의 관계를 정밀하게 파악하는 것이 중요하다. Ren 등의 연구는 몬테카를로 방법(Monte Carlo method)과 비어의 법칙을 활용해 레이저에 의해 여기된 금 나노입자와 조직의 열 발생을 추정하고, 이를 생체 열전달 방정식(bioheat transfer equation)의 원형(source term)으로 사용해 COMSOL[®]로 해당 방정식을 계산함으로써 단속적 가열의 효율성을 증명하고 금 나노입자의 부피분율, 레이저 조사 영역 반경, 종양의 가로-세로 비가 광열치료에 미치는 영향을 조사했다[62].

2.3. 금 나노입자의 표적지향 전달전략

최근 PEG로 안정화되어 있는 금 나노별을 점도가 높은 알코올과 섞은 뒤 잉크젯 프린터를 이용해 종이 위에 인쇄하고, NIR 레이저를 조사하여 광열특성과 금 나노별 표면으로부터의 약물방출 특성을 본 Borzenkov 등의 연구처럼 광열치료를 새로운 형태로 적용하려는 시도도 보고되었지만[63], 여전히 광열치료의 궁극적인 목표는 사람의 몸 안에 광열변환기를 주입해 종양을 제거하는 것으로, 이 경우 광열치료의 효율은 광열변환기의 종양 내 분포에 의존한다. 종양에 금 나노입자를 균일하게 축적시켜야 보다 선택적이고 강력한 치료효과를 확보할 수 있는 것이다. 이런 목적을 위해 표적지향 전략이 필요한데, 크게 능동적 표적지향(active targeting)과 수동적 표적지향(passive targeting)으로 나눌 수 있다[36,64,65]. Table 2에 최근 보고된 문헌들에서 사용한 표적지향 전달 전략을 사용된 표적지향 물질 또는 전달 효율 증진 물질과 표적대상과 함께 정리하여 요약하였다.

능동적 표적지향은 선택적으로 표적과 반응할 수 있는 단백질, 펩티드, 또는 작은 분자들을 활용하는 방식이다. 표적 지향성 물질의 예로는 항-상피세포성 성장인자수용체 항체, 트라스투주맙(trastuzumab, 제품명: Herceptin[®]) 항체, RGD 펩티드 등이 있으며, 이들은 암세포

표면에서 과도하게 발현되는 다양한 종류의 수용체들에 결합한다[30]. 그중 항체는 가장 흔히 사용되는 표적지향 물질이지만 제조과정이 복잡하고 그 자체가 항원으로 작용할 수 있다는 단점을 가진다. 또한 부착 시 나노입자의 수력학적 반경을 증가시키고, 이는 결국 세포에 의한 섭취를 감소시키는 동시에 세망내포체에 의해 붙잡힐 가능성을 늘린다[66,67]. 세포 투과 펩티드나 작은 분자들은 쉽게 사용이 가능하지만 개별 종양에 대한 특이성이 부족하며, 치료 도중에 발생하는 암 표면 수용체의 역동적 발현(dynamic expression)에 영향을 받는다[68,69]. 거기에 더해 이들을 나노입자 표면에 결합시키면 항체의 경우와 유사한 이유로 혈액 내 체류 시간(blood circulation time)이 줄어들 수 있다. 능동적 표적지향은 위에 언급한 단점에도 불구하고 여러 장점 또한 보유하고지만, 대상 종양의 정체화 확실치 않은 조기의 진단에는 제한이 있다. 종양마다 표면에 과발현되는 수용체의 종류에 약간의 차이가 존재하기 때문이다.

수동적 표적지향은 종양의 증진된 투과 및 저류 효과(enhanced permeation and retention effect, EPR effect)를 이용하는 방법이다. 종양은 빠르게 성장하기 위해 주위에 혈관을 형성하게 되는데 이러한 비정상적인 혈관들은 100-780 nm 정도 크기의 세포 간극(cell junction gap)을 갖게 된다[10]. 나노입자가 이 효과에 의해 종양 사이질(tumor interstitium)에 축적되면, 국소적인 비효율적 림프 배수(lymphatic drainage) 특성 때문에 축적된 자리에 오래 머무르게 되는 것이다[70]. 수동적 표적지향 전략도 단점을 가지는데, 일단 금 나노입자가 간이나 췌장과 같은 EPR 특성을 가지는 장기에 축적될 수 있다는 문제가 있다[13,18,21]. 또한 종양의 저산소 영역(hypoxic area)에는 혈액이 적기 때문에 이런 영역에까지 금 나노입자를 전달하기가 쉽지 않고, 종양 내부는 내부 압력이 높아 나노입자와 같은 항암 물질이 종양조직 내부로 침투하기가 어렵다[71,72]. 직접적으로 종양에 주입하는 종양 내 주입이 대안이 될 수 있지만 주입된 나노입자는 일반적으로 주입 지점에만 남아 있을 뿐 종양 내로 침투되지 않는다[48].

최근 보고된, 수동적 표적지향법의 효율을 증가시키기 위한 연구로는 다음과 같은 것들이 있다. Wang 등은 pH에 대응해 가역적으로 양

성자화 될 수 있는 긴 사슬의 아민과 카복시기를 말단에 가지는 PEG로 개질된 금 나노별을 보고했다. 이 나노별을 이용해 4T1 세포에 대해 실험한 결과 세포에 의한 나노입자의 섭취가 나노입자의 제타전위(zeta-potential)에 의존적이라는 것을 확인할 수 있었는데, 이는 종양 세포막과 음으로 대전된 카복시기 사이에 척력이 존재하기 때문으로, 이런 원리에 의해 제타전위가 음의 값(< -10 mV)으로 이동하면 세포에 의한 나노입자의 섭취가 줄어들었고, 반대로 제타전위가 중성 근처(-10 - $+10$ mV)에서 섭취가 증가했다. 종양조직은 정상세포에 비해 1 정도가 낮은 약산성의 pH를 나타내므로, 금 나노별은 pH 7.4의 중성 조건에서는 세포에 의해 섭취되지 않다가, 종양조직 주변에서 pH 6.4의 약산성 환경에 노출되면 세포에 의한 섭취가 증가하는 거동을 보이게 된다. 결국 금 나노별은 종양 세포 내에 선택적으로 축적되고, 광열치료 후에는 다시 안정적으로 몸에서 배출될 수 있었다. 또한 입자가 정전기적 척력이 아닌 PEG에 의해 안정화되었기 때문에 *in vivo*에서 알짜전하가 중성이 되더라도 응집되지 않고 분산된 상태로 존재했다[73].

Du 등은 싸이올기(thiol group)를 가진 DNA로 안정화된 금 나노막대를, 그것과 상보적 서열을 가지는 DNA를 통해 삼각형 DNA-오리가미 구조의 표면에 결합시킨 형태의 나노구조체를 보고했다. 여기서 삼각형의 생친화성 DNA-오리가미 구조는 수동적 표적지향 특성을 가지는 운반체로, 금 나노막대가 종양 내로 섭취되는 것과 섭취된 금 나노막대가 종양 내에 오래 머무르는 것을 보조한다. 4T1-fLuc-종양세포를 대상으로 *in vivo* 실험을 진행했을 때 실제 삼각형 DNA-오리가미 운반체는 금 나노막대가 종양의 중심부에 축적되도록 도와주었다[74].

능동적 표적지향과 수동적 표적지향 외에 세포를 이용한 운반을 대안으로 제시하고 있는 연구들도 있다. 단핵구, 대식세포, 중간엽줄기세포(mesenchymal stem cell), 신경줄기세포, 유도만능줄기세포(induced pluripotent stem cells, iPS)처럼 종양에 선택적으로 반응하는 세포를 이용해 물질을 전달하는 기술은 기존에도 존재했다[48,75]. 보통 단핵구와 대식세포가 선호되는데, 이는 이 두 세포가 혈액 속에 존재해 환자에게서 얻어내기가 쉽기 때문이다. 게다가 대식세포는 애초에 식세포작용을 위해 설계된 세포라 약물이나 금 나노입자를 섭취시키기가 상대적으로 용이하다[48]. iPS 세포도 전사인자(transcription factor)를 가지는 분화된 체세포를 재프로그래밍 하는 과정을 통해 상대적으로 쉽게 생성시킬 수 있어 단핵구 및 대식세포와 비슷한 맥락에서 이점을 가진다[72]. 이들 세포들은 혈액의 유무나 압력에 관계 없이 암조직의 깊은 곳까지 자유롭게 출입할 수 있는 특성을 가지므로, 이러한 세포를 운반체로 이용하면 금 나노입자의 종양 내 머무름 시간을 연장시키고 분포를 고르게 할 수 있다.

Kang 등은 주변의 pH에 반응성을 가지는 리간드로 안정화되어 있는 구형 금 나노입자를 중간엽줄기세포를 운반체로 사용해 암세포로 이동시키는 방법을 보고했다. 사용된 리간드는 중성 조건에서는 음전하를 띠지만, 줄기세포 내로 들어가 엔도솜의 약산성 환경에 노출되면 리간드의 일부가 양전하를 띠게 되어 정전기적 인력으로 금 나노입자의 응집이 일어난다. 이 전략은 두 가지 이점을 가지는데, 하나는 금 나노입자의 응집에 의해 나노구조체의 LSPR 파장이 NIR 영역으로 전환된다는 것이고, 다른 하나는 세포 내로 섭취된 후 응집이 일어나는 것이라 줄기세포의 섭취 효율에는 영향을 주지 않으면서 반대로 세포 내에서 밖으로 빠져나갈 확률은 줄어든다는 것이다[75]. Liu 등은 금 나노막대를 다공성 실리카로 포장한 뒤 여기에 항-CXCR4 항체를 도입한 다음 iPS 세포에 적재한 형태의 운반체를 보고했다. CXCR4는 G 단백질 연결 수용체(G-protein coupled sev-

en-span transmembrane receptor)로 iPS와 종양세포 모두 세포막에 해당 수용체가 발현되어 있다. 사용된 항-CXCR4 항체는 다공성 실리카로 코팅된 금 나노막대에 대한 iPS의 섭취 효율을 증대시키는 기능을 가진다. 또한 CXCR4는 암세포 표면에서 과발현되는 기질세포 유래 인자-1 (stromal-derived factor 1, SDF1)에 선택적으로 결합하기 때문에, 금 나노막대를 적재한 iPS는 바로 이 SDF1의 농도 기울기를 통해 종양부위로 움직이게 되고 이후 광열특성에 의해 열이 가해지면 iPS로부터 금 나노막대가 방출되어 종양세포를 가열하는 방식으로 치료가 진행된다(Figure 3)[76]. 같은 Cui 연구 그룹의 Yang 등은 앞선 전략에서 조금 더 발전한 결과를 보고했다. 줄기세포를 운반체로서 사용할 때의 문제점은 광열치료 후 간, 폐, 비장, 신장과 같은 정상 장기에 잔존하게 된 줄기세포가 새로운 암으로 발달할 가능성을 가진다는 점과, 이미 존재하는 종양의 성장을 촉진시킬 수 있다는 점이다. 그렇기 때문에 광열치료 후에 잔존하는 줄기세포를 전부 사멸시키는 것이 권장된다. 이를 위해 Yang 등은 세포의 분화와 성장을 억제해 최종적으로 세포사멸사를 유도하는 물질인 미토마이신 C (mitomycin C)를 iPS에 처리한 후 금 나노막대를 적재시켜 운반체로 사용했다. 실험 결과 미토마이신 C로 처리한 iPS 세포는 광열치료를 진행한 7일 후에 전부 사멸했다[72].

그 외에 금 나노입자를 포함하는 나노구조체를 종양 조직 내에 장기적으로 고정시키는 사례도 있다. 금 나노입자를 종양에 직접 주입했다 하더라도 시간이 지나면 확산 등에 의해 금 나노입자가 종양으로부터 먼 위치로 이동하는 현상이 일어날 수 있는데, 운반체를 조직 내에 고정시킨다면 이러한 문제점을 우회하고 반복적인 광열치료를 가할 수 있기 때문이다. Zhang 등은 PEG로 안정화된 금 나노막대와, 항암제인 파클리탁셀이 적재된 키토산 고분자 미셀을 열민감성 poly(F127) 하이드로젤로 감싼 형태의 나노구조체를 소개했다. Poly(F127) 하이드로젤은 열에 노출되면 겔화되는 특성을 가지기 때문에, 이 나노구조체를 간세포암(hepatocellular carcinoma) 등의 종양 내에 주입하게 되면 체온에 의해 하이드로젤이 종양 조직 내에 고정되게 된다. 여기에 NIR 파장의 레이저를 조사하면 금 나노막대에 의해 광열치료가 진행되며, 그와 별도로 고정된 하이드로젤로부터 파클리탁셀이 지속적으로 방출되어 화학치료 또한 수반되는 원리이다[77]. Zhang 등은 금 나노별과 금 나노막대 두 종류의 비등방성 금 나노입자를 각각 다공성 생친화성 젤라틴 내에 가둔 형태의 나노구조체를 보고했다. 다공성 젤라틴은 세포에 부착되는 특성을 가지기 때문에 이를 인간 자궁경부암 세포(HeLa cells)와 같은 병소에 직접 이식하면 금 나노입자를 해당 위치에 오래 잡아놓을 수 있다[53].

2.4. 치료효과 향상을 위한 융합 전략

2.4.1. 다른 치료기법과의 융합

광열치료만을 단독으로 적용할 경우 불균일한 가열에 의해 살아남는 종양세포가 발생할 위험성이 존재한다. 이는 종양에 도달한 금 나노입자의 절대량과 고르지 않은 종양 내 분포, NIR 파장의 투과 깊이 에 따른 점진적 약화는 물론, 종양의 종류, 종양의 위치와 형태, 종양의 나노입자 섭취 효율, 조직의 광학적/열적 특성, heat sink 효과와 같은 국소 조직과 관련된 변수 등이 복합적으로 작용함으로써 유발되는 것으로 예측이 어려우며, 이는 단일 치료법으로서 광열치료의 범용성을 저해하는 요소로 작용한다[77]. 광열치료의 이러한 낮은 범용성을 보여주는 최근 연구로, Singh 등은 금 나노막대를 인간 위식도접합부암(oesophagogastric adenocarcinoma)에 *in vitro*로 적용해 광열치료를 진행했을 때 그 결과가 금 나노입자의 양과 NIR 레이저의 출력에 의

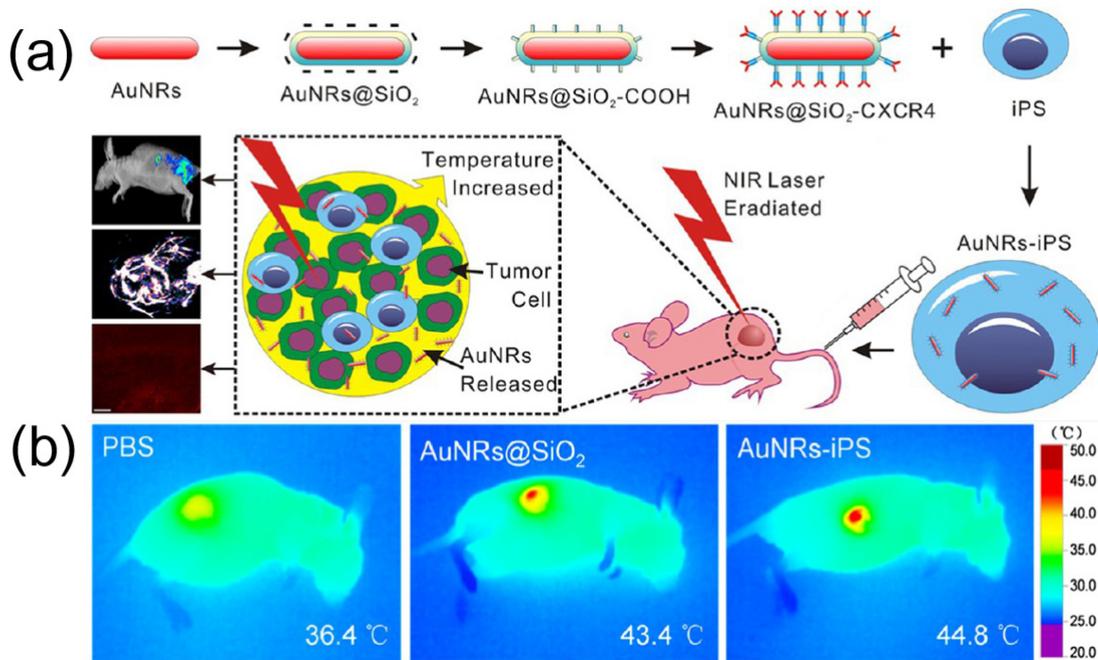


Figure 3. (a) Schematic diagram of the delivery strategy of gold nanorods using iPS cells. **(b)** *In vivo* infrared microscopic images shows the generation of heat from gold nanorods located at tumor site by iPS cells. (AuNRs : gold nanorods, CXCR4 : C-X-C chemokine receptor type 4, iPS : induced pluripotent stem, NIR : near infrared, PBS : phosphate buffered saline) Reprinted with permission from ref.[76].

존적이란 결과를 보였다[78]. Hussein 등은 구형의 금 나노입자만을 단독으로 사용해서 인간 자궁경부암 세포와 유선종양 세포(AMN3) 각각에 대한 광열치료 응답특성을 *in vitro*에서 비교했을 때 같은 조건으로 광열치료를 진행하더라도 암세포주에 따라 그 반응에 유의미한 차이가 있으며, 적용한 금 나노입자의 농도 변화에 따른 광열치료 응답의 의존양상도 서로 다르다는 점을 확인했다[79]. Kang 등은 금 나노막대로 HER2 양성 유방암인 BT474와 SK-BR-3 세포에 대해 각각 광열치료를 진행하고 SK-BR-3 세포에 의한 금 나노입자의 섭취 효율이 낮음에도 오히려 광열치료에는 더욱 취약하다는 점을 관측한 후, 이 결과를 BT474 세포가 많은 양의 시냅스를 가져 작은 물질들을 더욱 쉽게 흡착할 수 있지만 덩어리진 상태로 성장해 가열 시 온도상승 거동이 좋지 않기 때문에 일어나는 현상이라 설명하였다. 이러한 맥락에서 Figure 4에서 볼 수 있는 것과 같이 광열치료를 광역화치료 (photodynamic therapy), 화학치료(chemotherapy), 유전자치료(gene therapy) 등과 결합하는 것은 광열치료로 제거되지 못한 암세포를 전통적인 치료기법으로 제거함으로써 종양의 재발을 방지하고 광열치료법의 범용성을 향상시키는 데 그 기본적인 목적이 있다[80].

Yu 등은 속이 빈 금 나노껍질과, 중앙 주변의 낮은 pH에서 세포 내로 투과하는 특성을 가진 펩타이드(pH low insertion peptide), 빛을 받아 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 생산하는 기능을 가지는 광증감제(photosensitizer)인 클로린 e6 (Chlorin e6, Ce6)을 조합한 나노구조체를 통해 광열치료와 광역화치료를 융합했다. 암세포 내로 들어간 나노구조체가 광열특성으로 열을 생성하면 Ce6를 나노입자의 표면에 결합시키고 있는 약한 정전기적 상호작용이 약화되어 Ce6를 세포 내로 방출시키게 된다[81]. Yeo 등은 광증감제인 Ce6와 함께 인간 혈청 단백질 코로나로 둘러싸인 금 나노막대를 광열치료에 활용한 결과를 보고했다. 본 연구의 독특한 점은, 원래 *in vivo*에서 능동적 표적지향 능력을 손상시키는 불순물로서 간주되던 단백질 코로나를 광

열특성에 영향을 주지 않으면서 금 나노막대와 Ce6를 효율적으로 암에 전달시키는 운반체로 활용했다는 것이다. 단백질 코로나는 세포에 의한 금 나노입자의 섭취효율을 증대시키며, 원래 사람의 몸에 존재하는 물질이기 때문에 원치 않은 면역반응에 의한 금 나노입자의 제거를 최소화할 수도 있다. Ce6는 물에 대한 용해도가 나쁘지만 인간의 혈청에는 녹는 특성을 가지는데, 이를 이용해 Ce6를 인간의 혈청에 녹인 다음 금 나노막대를 첨가하는 방식으로 나노구조체를 제조했다[82]. Choi 등은 광증감제인 피오포바이드-a (pheophorbide a, Pheo)를 금 나노막대 표면에 도입한 나노구조체를 제조하는 방식에 대해 소개했다. 금 나노막대를 씨앗-매개 성장법으로 만든 뒤 블록 공중합체로 안정화시켰는데, 이 공중합체는 먼저 PEG와 염산을 결합시킨 다음 PEG의 반대쪽 말단에 poly-β-benzyl-L-aspartate (PBLA)를 연결시키고, 마지막으로 PBLA에 3,4-dihydroxy hydrocinnamic acid (HCA)를 붙이는 과정을 통해 만들어졌다. 여기서 염산은 금 나노막대에 능동적 표적지향 능력을 부여하기 위한 요소이고, HCA는 블록 공중합체를 금 나노막대에 결합시키기 위한 연결체로서의 기능을 수행한다. 그 후 Pheo와 cystamine dihydrochloride를 결합하고 이것을 블록 공중합체에 부가함으로써 광증감제를 금 나노막대의 표면에 도입했다[4].

광증감제에 의해 만들어진 활성산소종은 생물학적 시스템 내에서 상대적으로 짧은 수명(< 0.04 μs)을 가지고 활성 영역(active region)도 작아서(< 0.02 μm) 이처럼 광열변환기와 통합시킬 경우 그 효율을 큰 폭으로 향상시킬 수 있으나[81], Ce6와 Pheo는 둘 다 약 670 nm 파장의 빛에 의해 활성화되는 만큼 표피 중앙 이외의 응용에서는 범용성이 떨어질 수 있다. 또한 ROS의 치료적 특성에 대한 논란도 존재한다. 광증감제가 없더라도 광열치료 중 세포는 열 스트레스에 의해 무시할 수 없는 양의 활성산소종을 생산하는데, 이것이 주변의 정상 세포에 오히려 악영향을 줄 수 있다는 주장이 있으며, 이와 관련해 Aioub 등

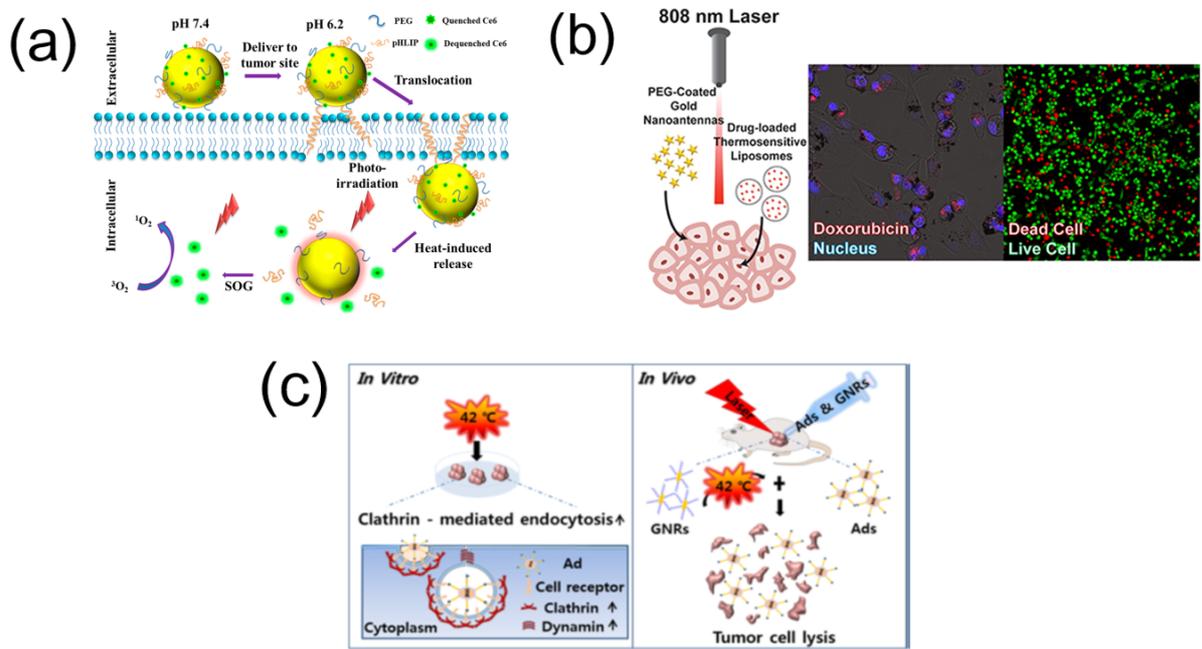


Figure 4. Schematic diagrams of therapeutic strategies combining photothermal therapy with other therapeutic agents such as (a) photosensitizer[81], (b) anticancer drug[84] and (c) oncolytic virus[86]. (PEG : poly(ethylene glycol), pHLIP : pH (low) insertion peptide, Ce6 : chlorin e6, SOG : singlet oxygen generation, GNRs : gold nanorods, Ad : adenovirus) Reprinted with permission from refs.[81,84,86].

이 금 나노막대의 양끝 말단 부분을 활성산소종에 대한 환원 특성을 가지는 백금으로 코팅하여 활성산소종 문제를 우회한 연구를 소개하기도 했다[83].

Ou 등은 금 나노안테나라고 이름붙인 50-60 nm 크기의 금 나노별을 ~41.7 °C 정도의 낮은 온도에 민감한 리포솜과 PEG로 코팅하고 그 내부에 독소루비신을 적재함으로써 다제내성(multidrug-resistant)이라고 알려진 약물 저항성을 나타내는 삼중음성유방암 모델인 MDA-MB-231에 대해 광열치료와 약물치료를 동시에 수행할 수 있는 나노구조체를 만들었다. 이 방식을 통해 독소루비신의 주요한 문제점 중 하나인 비특이적인 세포 독성을 줄일 수 있었다[84]. Ali 등은 금 나노막대와, 시토크롬 c/dATP-매개 카스파제 활성화를 방어함으로써 열에 대한 세포의 저항성을 증진시키는 열충격단백질의 일종인 HSP70의 억제제인 퀘세틴(quercetin)을 통합했다. 상피조직에 발생하는 세 종류의 다른 암세포주인 HSC (구강), MCF-7 (유방), Huh7.5 (간) 각각에 대해 금 나노막대의 섭취 효율과 광열치료에 대한 응답 특성을 비교했을 때 Huh7.5 세포에서 세포자멸사를 일으키는 비율이 더 높았는데, 이것이 Huh7.5 세포에서 유난히 낮은 수준으로 발견되는 HSP70과 관련이 있을 것으로 보고 HSP70의 발현을 억제하는 siRNA를 도입해 이 가설이 사실임을 확인했다[85]. Parida 등은 금 나노막대를 이블록공중합체 마이셀로 포장하고, 그 표면에 선택성을 가지는 프로스타노이드 EP4 수용체 억제제인 GW627368X를 적재시켜 광열치료와 화학적치료를 통합했다. 여기서 사용된 이블록공중합체 마이셀은 암 주변의 높은 글루타치온 농도에 노출되면 분해되어 적재했던 약물을 방출했다[33].

Jung 등은 단독으로 사용한다면 좋은 효율을 얻을 수 없는 종양살상 아데노바이러스(oncolytic adenovirus)를 이용한 암 유전자 치료와 금 나노막대를 통한 광열치료를 통합해 두경부암세포에 대한 *in vitro* 실험을 진행했다. 종양살상 아데노바이러스는 클라트린-매개 세

포내이입(clathrin-mediated endocytosis)을 통해 종양세포 내로 섭취되는데, 금 나노막대의 광열변환 특성에 의해 세포에 열이 가해지면 세포의 클라트린 발현과, 클라트린-매개 세포내이입을 조절하는 인자인 거대 지티파제 다이나민(large GTPase dynamin)의 발현이 증가해 종양살상 아데노바이러스가 보다 쉽게 종양세포 내에 축적되게 된다. 사용된 종양살상 아데노바이러스는 혈관내피성장인자 프로모터(vascular endothelial growth factor promoter)를 표적지향하는 기능을 가진 인공 전사억제 아연-핑거 단백질(artificial transcriptional repressor zinc-finger protein)을 발현하고 있는 종류이기에 능동적 표적지향 능력을 가진다[86]. Wang 등은 금 나노막대의 표면에 세포가 높은 온도에 노출되었을 경우 일어나는 열충격반응(heat shock response)에 의해 생성되는 열충격단백질의 일종인 BAG3의 유전체에 작용하는 siRNA를 도입해 광열치료와 유전자 침묵 전략을 통합시켰다. siRNA에 의해 BAG3의 발현이 저하되면 암세포는 광열치료에 더욱 민감해지고 열에 의한 사멸을 더욱 잘 일으키게 된다[87].

2.4.2. 치료진단

테라그노시스(theragnostics 또는 theranostics)는 ‘therapeutics’와 ‘diagnostics’의 합성어로 치료와 진단을 동시에 수행하는 기법을 말한다[88]. 광열변환기인 금 나노입자는 SERS나, CT, PAI, TPL 영상의 조영제로 기능할 수 있기 때문에 그 자체로 치료진단의 매개체가 된다. 일단 금이 SERS 특성을 나타낸다는 것은 잘 알려진 사실로, 금 나노입자에서 SERS 증강인자(enhancement factor)는 전형적으로 10^7 - 10^9 의 높은 값을 가지며, 근접한 나노입자 간의 LSPR 공명에 의해 만들어지는 hot spot에서는 10^{14} 까지 도달하기도 한다[89,90]. 또한 금은 높은 원자량과 엑스레이 흡광 계수를 가져 같은 질량의 아이오딘에 비해 ~2.7배나 뛰어난 엑스레이 감쇠(X-ray attenuation) 특성을 나타내기 때문에, 금 나노막대 자체를 CT 조영제로 활용하는 것도 가

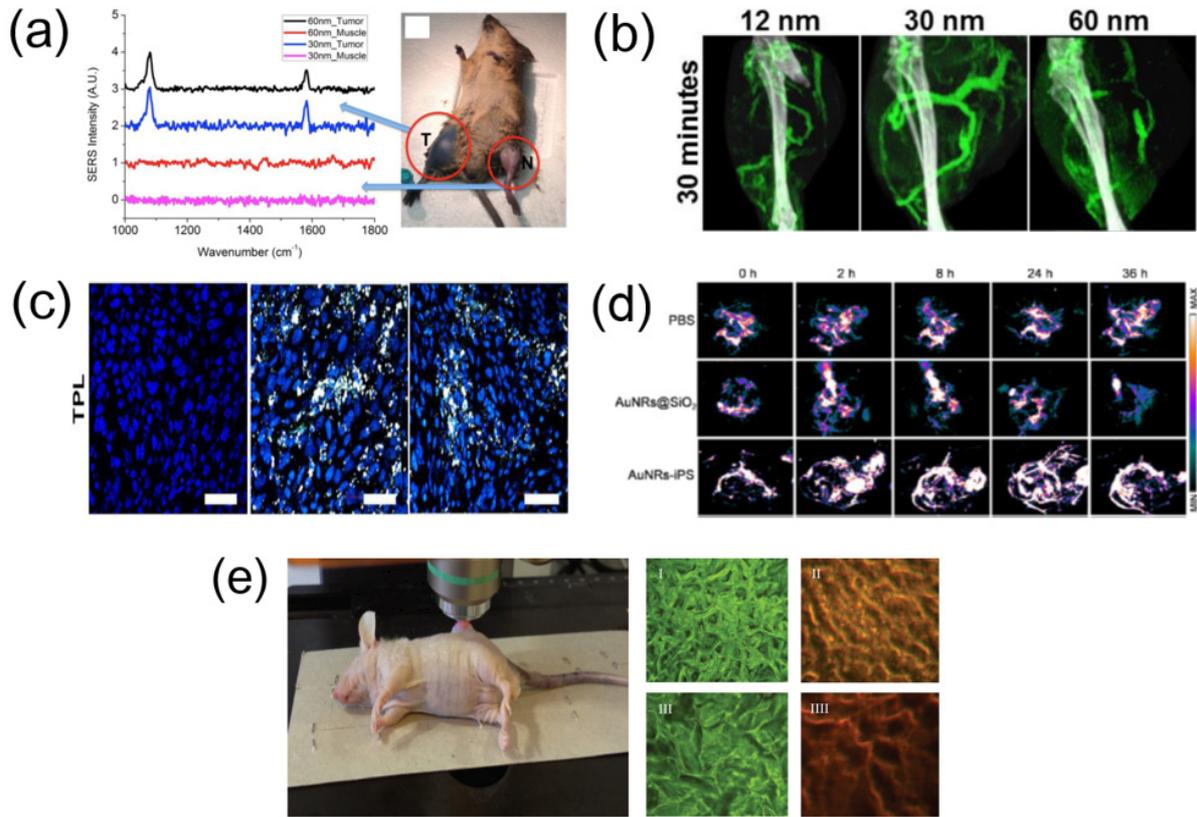


Figure 5. Theranostic strategies combine photothermal therapy with imaging modalities, (a) surface-enhanced Raman scattering (SERS)[57], (b) computed tomography (CT)[57], (c) two-photon luminescence (TPL)[57], (d) photoacoustic imaging (PAI)[76] and (e) spectral shift analysis[95]. Reprinted with permission from refs.[57,76,95].

능한 것이다[57,59]. PAI는 전술한 두 광학 진단 기법과 마찬가지로 비침습적 진단 방식으로, 선택도가 높고 공간적 해상도도 좋으며, NIR 파장을 이용한다면 수 센티미터 깊이에 있는 조직에 대해서도 영상화가 가능하다[91]. TPL 또한 이전부터 금 나노입자에 대해 광범위하게 적용되어 온 영상화 방식이다[92]. Figure 5에 나타난 것과 같이 본 총설에서 소개한 논문 중에도 이처럼 SERS[30,32,57], CT[33,57,59,75], PAI[40,74,76,93,94], TPL[57,76]이라는 네 개의 대표적인 영상화 기법을 광열치료와 통합한 사례가 있었으나 이전보다 개선된 측면에 대해 보고한 논문은 없었다. 다만 Betzer 등이 초분광영상기계(hyperspectral imaging system)를 통해 금 나노막대를 이용한 *in vivo* 광열치료를 스펙트럴 편이(spectral shift) 분석을 적용한 사례를 보고했다. 스펙트럴 편이 분석은 서로 상호작용하는 복수 입자들의 플라즈몬 짝지움에 의해 혼합된 공명파장이 단일 입자일 때에 비해 장파장 쪽으로 이동하는 현상인 입자간 플라즈몬 공명 패턴(interparticle plasmon resonance pattern, IPR)에 기반을 두는 영상화 기법이다. 이때 IPR에서 공명파장이 편이되는 정도는 플라즈몬 짝지움 하에 있는 두 입자 간의 거리가 증가하면 지수함수적으로 감소되며, 만약 두 입자 간의 간격이 구형 입자일 경우 직경, 비등방성 입자일 경우 단축 길이의 ~2.5배 이상이 되면 IPR 현상 자체가 무시된다. 사용된 금 나노막대는 대상이 된 종양인 두경부 편평세포암(squamous cell carcinoma)에서 과발현되는 상피세포성 성장인자수용체(epidermal growth factor receptor, EGFR)에 선택적으로 결합하는 항체로 개질되었는데, 이에 의한 능동적 표적지향으로 복수의 금 나노막대가 암세포 표면에 달라붙으면 편

이된 공명파장을 암조직 모양으로 화상화할 수 있었다(Figure 5e)[95]. 그 외에는 영상화가 가능한 신호 특성을 나타내는 물질을 금 나노입자와 함께 사용한 연구가 있었다. Liu 등은 금 나노막대를 다공성 실리카 코팅하고 유방암 세포로의 선택적 흡수를 보조하기 위해 PEG와 tLyp-1 펩티드로 기능화한 뒤 실리카의 공극에 형광 특성이 있는 인도시아닌 그린(indocyanine green, ICG)을 적재시켜 안정성을 향상시킨 나노구조체를 구성했다[96]. Du 등은 금 나노막대를 계면중합을 통해 광열특성을 가진 폴리피롤로 코팅함으로써 용융효과(melting effect)를 막아 반복적인 NIR 레이저 조사에도 높은 이광자(two-photon) 광열효율을 유지하는 동시에 이광자 현미경(two-photon microscopy)을 통해 영상화될 수도 있는 코어-셸 복합체를 만들었다[97]. Bai 등은 속이 빈 금 나노껍질의 표면에 초상자성 산화철 나노입자를 부착해 광열치료와 PAI, T₂-강조 자기공명영상(T₂-weighted MRI)을 동시에 진행할 수 있는 다기능성 나노구조체를 만들었다[93]. Azhdarzadeh 등도 초상자성 산화철 나노입자의 표면에 금을 덮어줘서 산화철 나노입자의 세포독성을 줄이고 대장암에 대해 광열치료와 MRI를 동시에 진행할 수 있는 19 nm 정도 크기의 나노구조체를 소개했다[98]. Kang 등은 금 나노막대를 NIR 파장 영역에서 형광 특성을 나타내는 포르피린(porphyrin)으로 코팅한 다음 능동적 표적지향을 위해 항-HER2 항체를 결합시킨 형태의 나노구조체를 보고했다[80].

3. 결 론

본 총설에서는 금 나노입자를 사용한 광열치료 분야에서 치료효과를 향상시키기 위해 도입된 다양한 전략에 대해 논의하였다. 특히, 금 나노입자의 구조와 배열 변화에 의한 광학 성질 제어를 바탕으로 광열변환 효율 향상을 꾀한 재료공학적인 측면의 접근방법과 병소에 금 나노입자를 효과적으로 전달시켜 선택적 치료효과를 향상시키고자 한 생명-의학적인 접근방법을 중점적으로 소개하였다. 나노입자는 단백질이나 핵산과 같은 생분자와 비슷한 크기, 높은 반응성을 보장하는 넓은 표면적 등의 형태적 특성과 독특한 물리화학적 특성으로 인해 지난 10여 년 동안 생명-의학 분야에서 그 응용이 적극적으로 시도되어 왔다. 그러나 나노물질에 대한 약리학적 측면에서의 이해 부족, 벌크와는 다른 성질에 기인하는 생체 독성에 대한 우려 등으로, 그중 가장 안정적이라고 사료되는 금 나노입자의 경우도 몹시 제한적인 수준에서 임상 연구가 진행 중인 것이 현실이다. 이러한 불명확한 측면에도 불구하고 나노물질을 이용하는 나노의학이 앞으로 다가올 시대의 진단 및 치료 분야에서 주도적인 역할을 할 것이라는 예측에는 이견이 없다. 본 총설의 마지막에 논의한 것처럼 현재의 광열치료 연구는 다른 진단 기법 및 치료기법과 융합된 테라그노시스의 한 요소로서 발전하는 것이 기본적인 기조이다. 그러므로 여타 융합학문의 목적 및 방법이 그렇듯이 금 나노입자를 이용한 생명-의학 분야의 응용 역시 화학, 소재과학, 화학공학, 생명공학, 의학 등 여러 분야의 적극적인 학제간 공동연구를 통해서만 현재 제기되고 있는 우려와 한계를 극복하고 인류의 건강하고 행복한 삶에 기여할 수 있게 될 것이다.

감 사

이 연구는 2017년도 명지대학교 선도연구단 지원으로 연구되었음.

References

1. L. R. Hirsch, R. J. Stafford, J. A. Bankson, S. R. Sershen, B. Rivera, R. E. Price, J. D. Hazle, N. J. Halas, and J. L. West, Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 13549-13554 (2003).
2. D. Pissuwan, S. M. Valenzuela, and M. B. Cortie, Therapeutic possibilities of plasmonically heated gold nanoparticles, *Trends Biotechnol.*, **24**, 62-67 (2006).
3. E. B. Dickerson, E. C. Dreaden, X. Huang, I. H. El-Sayed, H. Chu, S. Pushpanketh, J. F. McDonald, and M. A. El-Sayed, Gold nanorod assisted near-infrared plasmonic photothermal therapy (PPTT) of squamous cell carcinoma in mice, *Cancer Lett.*, **269**, 57-66 (2008).
4. J. S. Choi and S. Y. Kim, Synthesis and characterization of photosensitizer-conjugated gold nanorods for photodynamic/photothermal therapy, *Appl. Chem. Eng.*, **27**, 599-605 (2016).
5. T. Sugiura, D. Matsuki, J. Okajima, A. Komiya, S. Mori, S. Maruyama, and T. Kodama, Photothermal therapy of tumors in lymph nodes using gold nanorods and near-infrared laser light with controlled surface cooling, *Nano Res.*, **8**, 3842-3852 (2015).
6. G. v. Maltzahn, J. H. Park, A. Agrawal, N. K. Bandaru, S. K. Das, M. J. Sailor, and S. N. Bhatia, Computationally guided photothermal tumor therapy using long-circulating gold nanorod antennas, *Cancer Res.*, **69**, 3892-3900 (2009).
7. B. Jang, Y. S. Kim, and Y. Choi, Effects of gold nanorod concentration on the depth-related temperature increase during hyperthermic ablation, *Small*, **7**, 265-270 (2011).
8. X. Huang, P. K. Jain, I. H. El-Sayed, and M. A. El-Sayed, Determination of the minimum temperature required for selective photothermal destruction of cancer cells with the use of immunotargeted gold nanoparticles, *Photochem. Photobiol.*, **82**, 412-417 (2006).
9. P. K. Jain, X. Huang, I. H. El-Sayed, and M. A. El-Sayed, Noble metals on the nanoscale: optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology, and medicine, *Acc. Chem. Res.*, **41**, 1578-1586 (2008).
10. S. Kommareddy, S. B. Tiwari, and M. M. Amiji, Long-circulating polymeric nanovectors for tumor-selective gene delivery, *Technol. Cancer Res. Treat.*, **4**, 615-625 (2005).
11. W. Cai, T. Gao, H. Hong, and J. Sun, Applications of gold nanoparticles in cancer nanotechnology, *Nanotechnol. Sci. Appl.*, **1**, 17-32 (2008).
12. S. D. Perrault, C. Walkey, T. Jennings, H. C. Fischer, and W. C. W. Chan, Mediating tumor targeting efficiency of nanoparticles through design, *Nano Lett.*, **9**, 1909-1915 (2009).
13. A. S. Thakor and S. S. Gambhir, Nano-oncology: the future of cancer diagnosis and therapy, *CA Cancer J. Clin.*, **63**, 395-418 (2013).
14. S. Link and M. A. El-Sayed, Spectral properties and relaxation dynamics of surface plasmon electronic oscillations in gold and silver nanodots and nanorods, *J. Phys. Chem. B*, **103**, 8410-8426 (1999).
15. S. Link, C. Burda, M. B. Mohamed, B. Nikoobakht, and M. A. El-Sayed, Laser photothermal melting and fragmentation of gold nanorods: energy and laser pulse-width dependence, *J. Phys. Chem. A*, **103**, 1165-1170 (1999).
16. X. Huang, I. H. El-Sayed, W. Qian, and M. A. El-Sayed, Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 2115-2120 (2006).
17. C. Iancu, Photothermal therapy of human cancers (PTT) using gold nanoparticles, *Biotechnol. Mol. Biol. Nanomed.*, **1**, 53-60 (2013).
18. A. J. Mieszawska, W. J. M. Mulder, Z. A. Fayad, and D. P. Cormode, Multifunctional gold nanoparticles for diagnosis and therapy of disease, *Mol. Pharm.*, **10**, 831-847 (2013).
19. A. M. Alkilany and C. J. Murphy, Toxicity and cellular uptake of gold nanoparticles: what we have learned so far?, *J. Nanopart. Res.*, **12**, 2313-2333 (2010).
20. X. Huang, P. K. Jain, I. H. El-Sayed, and M. A. El-Sayed, Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles, *Lasers Med. Sci.*, **23**, 217-228 (2007).
21. L. C. Kennedy, L. R. Bickford, N. A. Lewinski, A. J. Coughlin, Y. Hu, E. S. Day, J. L. West, and R. A. Drezek, A new era for cancer treatment: gold nanoparticle-mediated thermal therapies, *Small*, **7**, 169-183 (2011).
22. R. Weissleder, A clearer vision for in vivo imaging, *Nat. Biotechnol.*, **19**, 316-317 (2001).
23. A. C. Anselmo and S. Mitragotri, Nanoparticles in the clinic, *Bioeng. Transl. Med.*, **1**, 10-29 (2016).
24. E. Buytaert, M. Dewaele, and P. Agostinis, Molecular effectors of multiple cell death pathways initiated by photodynamic therapy, *Bioeng. Transl. Med.*, **1776**, 86-107 (2007).

25. P. Mroz, A. Yaroslavsky, G. B. Kharkwal, and M. R. Hamblin, Cell death pathways in photodynamic therapy of cancer, *Cancers*, **3**, 2516-2539 (2011).
26. R. D. Bonfil, O. D. Bustuoabad, R. A. Ruggiero, R. P. Meiss, and C. D. Pasqualini, Tumor necrosis can facilitate the appearance of metastases, *Clin. Exp. Metastasis*, **6**, 121-129 (1988).
27. Y. Wu and B. P. Zhou, Inflammation: a driving force speeds cancer metastasis, *Cell Cycle*, **8**, 3267-3273 (2009).
28. K. F. Chu and D. E. Dupuy, Thermal ablation of tumours: biological mechanisms and advances in therapy, *Nat. Rev. Cancer*, **14**, 199-208 (2014).
29. M. Zhang, H. S. Kim, T. Jin, and W. K. Moon, Near-infrared photothermal therapy using EGFR-targeted gold nanoparticles increases autophagic cell death in breast cancer, *J. Photochem. Photobiol., B*, **170**, 58-64 (2017).
30. M. Aioub and M. A. El-Sayed, A real-time surface enhanced raman spectroscopy study of plasmonic photothermal cell death using targeted gold nanoparticles, *J. Am. Chem. Soc.*, **138**, 1258-1264 (2016).
31. A. M. Gamal-Eldeen, D. Moustafa, S. M. El-Daly, E. A. El-Hussieny, S. Saleh, M. Khoobchandani, K. L. Bacon, S. Gupta, K. Katti, R. Shukla, and K. V. Katti, Photothermal therapy mediated by gum Arabic-conjugated gold nanoparticles suppresses liver preneoplastic lesions in mice, *J. Photochem. Photobiol. B*, **163**, 47-56 (2016).
32. M. R. K. Ali, Y. Wu, T. Han, X. Zang, H. Xiao, Y. Tang, R. Wu, F. M. Fernández, and M. A. El-Sayed, Simultaneous time-dependent surface-enhanced Raman spectroscopy, metabolomics, and proteomics reveal cancer cell death mechanisms associated with gold nanorod photothermal therapy, *J. Am. Chem. Soc.*, **138**, 15434-15442 (2016).
33. S. Parida, C. Maiti, Y. Rajesh, K. K. Dey, I. Pal, A. Parekh, R. Patra, D. Dhara, P. K. Dutta, and M. Mandal, Gold nanorod embedded reduction responsive block copolymer micelle-triggered drug delivery combined with photothermal ablation for targeted cancer therapy, *Biochim. Biophys. Acta*, **1861**, 3039-3052 (2017).
34. A. Murshid, J. Gong, M. A. Stevenson, and S. K. Calderwood, Heat shock proteins and cancer vaccines: developments in the past decade and chaperoning in the decade to come, *Expert Rev. Vaccines*, **10**, 1553-1568 (2011).
35. M. Hu, J. Chen, Z.-Y. Li, L. Au, G. V. Hartland, X. Li, M. Marquez, and Y. Xia, Gold nanostructures: engineering their plasmonic properties for biomedical applications, *Chem. Soc. Rev.*, **35**, 1084-1094 (2006).
36. X. Huang and M. A. El-Sayed, Gold nanoparticles: optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy, *J. Adv. Res.*, **1**, 13-28 (2010).
37. S. Paterson, S. A. Thompson, J. Gracie, A. W. Wark, and R. de la Rica, Self-assembly of gold supraparticles with crystallographically aligned and strongly coupled nanoparticle building blocks for SERS and photothermal therapy, *Chem. Sci.*, **7**, 6232-6237 (2016).
38. Y. Xia, X. Wu, J. Zhao, J. Zhao, Z. Li, W. Ren, Y. Tian, A. Li, Z. Shen, and A. Wu, Three dimensional plasmonic assemblies of AuNPs with an overall size of sub-200 nm for chemo-photothermal synergistic therapy of breast cancer, *Nanoscale*, **8**, 18682-18692 (2016).
39. C. Iodice, A. Cervadoro, A. Palange, J. Key, S. Aryal, M. R. Ramirez, C. Mattu, G. Ciardelli, B. E. O'Neill, and P. Decuzzi, Enhancing photothermal cancer therapy by clustering gold nanoparticles into spherical polymeric nanoconstructs, *Opt. Lasers Eng.*, **76**, 74-81 (2016).
40. X. Cheng, R. Sun, L. Yin, Z. Chai, H. Shi, and M. Gao, Light-triggered assembly of gold nanoparticles for photothermal therapy and photoacoustic imaging of tumors in vivo, *Adv. Mater.*, **29**, 1604894 (2017).
41. Y. Wang, K. C. L. Black, H. Luehmann, W. Li, Y. Zhang, X. Cai, D. Wan, S. Y. Liu, M. Li, P. Kim, Z.-Y. Li, L. V. Wang, Y. Liu, and Y. Xia, Comparison study of gold nanohexapods, nanorods, and nanocages for photothermal cancer treatment, *AS Nano*, **7**, 2068-2077 (2013).
42. ClinicalTrials.gov, Pilot study of AuroLase (tm) therapy in refractory and/or recurrent tumors of the head and neck, U.S., National Institute of Health. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00848042> (2016).
43. P. K. Jain, K. S. Lee, I. H. El-Sayed, and M. A. El-Sayed, Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: applications in biological imaging and biomedicine, *J. Phys. Chem. B*, **110**, 7238-7248 (2006).
44. N. R. Jana, Gram-Scale Synthesis of Soluble, Near-monodisperse gold nanorods and other anisotropic nanoparticles, *Small*, **1**, 875-882 (2005).
45. X. Huang, S. Neretina, and M. A. El-Sayed, Gold nanorods: from synthesis and properties to biological and biomedical applications, *Adv. Mater.*, **21**, 4880-4910 (2009).
46. K. A. Kozek, K. M. Kozek, W. C. Wu, S. R. Mishra, and J. B. Tracy, Large-scale synthesis of gold nanorods through continuous secondary growth, *Chem. Mater.*, **25**, 4537-4544 (2013).
47. S. E. Skrabalak, L. Au, X. Li, and Y. Xia, Facile synthesis of Ag nanocubes and Au nanocages, *Nat. Protoc.*, **2**, 2182-2190 (2007).
48. Z. Li, H. Huang, S. Tang, Y. Li, X. F. Yu, H. Wang, P. Li, Z. Sun, H. Zhang, C. Liu, and P. K. Chu, Small gold nanorods laden macrophages for enhanced tumor coverage in photothermal therapy, *Biomaterials*, **74**, 144-154 (2016).
49. S. C. Gad, K. L. Sharp, C. Montgomery, J. D. Payne, and G. P. Goodrich, Evaluation of the toxicity of intravenous delivery of auroshell particles (gold-silica nanoshells), *Int. J. Toxicol.*, **31**, 584-594 (2012).
50. C. Loo, A. Lin, L. Hirsch, M. H. Lee, J. Barton, N. Halas, J. West, and R. Drezek, Nanoshell-enabled photonics-based imaging and therapy of cancer, *Technol. Cancer Res. Treat.*, **3**, 33-40 (2004).
51. S. Kalele, S. W. Gosavi, J. Urban, and S. K. Kulkarni, Nanoshell particles: synthesis, properties and applications, *Curr. Sci.*, **91**, 1038-1052 (2006).
52. M. R. Rasch, K. V. Sokolov, and B. A. Korgel, Limitations on the optical tunability of small diameter gold nanoshells, *Langmuir*, **25**, 11777-11785 (2009).
53. J. Zhang, J. Li, N. Kawazoe, and G. Chen, Composite scaffolds of gelatin and gold nanoparticles with tunable size and shape for photothermal cancer therapy, *J. Mater. Chem. B*, **5**, 245-253 (2017).
54. H. Yuan, C. G. Khoury, H. Hwang, C. M. Wilson, G. A. Grant, and T. Vo-Dinh, Gold nanostars: surfactant-free synthesis, 3D modelling, and two-photon photoluminescence imaging,

- Nanotechnology*, **23**, 075102 (2012).
55. B. Nikoobakht and M. A. El-Sayed, Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method, *Chem. Mater.*, **15**, 1957-1962 (2003).
 56. M. R. K. Ali, I. M. Ibrahim, H. R. Ali, S. A. Selim, and M. A. El-Sayed, Treatment of natural mammary gland tumors in canines and felines using gold nanorods-assisted plasmonic photothermal therapy to induce tumor apoptosis, *Int. J. Nanomed.*, **11**, 4849-4863 (2016).
 57. Y. Liu, J. R. Ashton, E. J. Moding, H. Yuan, J. K. Register, A. M. Fales, J. Choi, M. J. Whitley, X. Zhao, Y. Qi, Y. Ma, G. Vaidyanathan, M. R. Zalutsky, D. G. Kirsch, C. T. Badea, and T. Vo-Dinh, A plasmonic gold nanostar theranostic probe for in vivo tumor imaging and photothermal therapy, *Theranostics*, **5**, 946-960 (2015).
 58. P. Qiu, M. Yang, X. Qu, Y. Huai, Y. Zhu, and C. Mao, Tuning photothermal properties of gold nanodendrites for in vivo cancer therapy within a wide near infrared range by simply controlling their degree of branching, *Biomaterials*, **104**, 138-144 (2016).
 59. B. Sun, J. Wu, S. Cui, H. Zhu, W. An, Q. Fu, C. Shao, A. Yao, B. Chen, and D. Shi, In situ synthesis of graphene oxide/gold nanorods theranostic hybrids for efficient tumor computed tomography imaging and photothermal therapy, *Nano Res.*, **10**, 37-48 (2017).
 60. A. Hatef, S. Fortin-Deschênes, E. Boulais, F. Lesage, and M. Meunier, Photothermal response of hollow gold nanoshell to laser irradiation: continuous wave, short and ultrashort pulse, *Int. J. Heat Mass Trans.*, **89**, 866-871 (2015).
 61. L. A. Dombrowsky, V. Timchenko, M. Jackson, and G. H. Yeoh, A combined transient thermal model for laser hyperthermia of tumors with embedded gold nanoshells, *Int. J. Heat Mass Trans.*, **54**, 5459-5469 (2011).
 62. Y. Ren, H. Qi, Q. Chen, and L. Ruan, Thermal dosage investigation for optimal temperature distribution in gold nanoparticle enhanced photothermal therapy, *Int. J. Heat Mass Trans.*, **106**, 212-221 (2017).
 63. M. Borzenkov, A. Määttänen, P. Ihalainen, M. Collini, E. Cabrini, G. Dacarro, P. Pallavicini, and G. Chirico, Fabrication of inkjet-printed gold nanostar patterns with photothermal properties on paper substrate, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **8**, 9909-9916 (2016).
 64. P. Ghosh, G. Han, M. De, C. K. Kim, and V. M. Rotello, Gold nanoparticles in delivery applications, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **60**, 1307-1315 (2008).
 65. X. Huang, X. Peng, Y. Wang, Y. Wang, D. M. Shin, M. A. El-Sayed, and S. Nie, A reexamination of active and passive tumor targeting by using rod-shaped gold nanocrystals and covalently conjugated peptide ligands, *ACS Nano*, **4**, 5887-5896 (2010).
 66. L. Brannon-Peppas and J. O. Blanchette, Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **56**, 1649-1659 (2004).
 67. R. Kunert and D. Reinhart, Advances in recombinant antibody manufacturing, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **100**, 3451-3461 (2016).
 68. J. Sudimack and R. J. Lee, Targeted drug delivery via the folate receptor, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **41**, 147-162 (2000).
 69. W. Chen, S. G. Allen, A. K. Reka, W. Qian, S. Han, J. Zhao, L. Bao, V. G. Keshamouni, S. D. Merajver, and J. Fu, Nanoroughened adhesion-based capture of circulating tumor cells with heterogeneous expression and metastatic characteristics, *BMC Cancer*, **16**, 614 (2016).
 70. T. W. Huang, S. H. Tseng, C. C. Lin, C. H. Bai, C. S. Chen, C. S. Hung, C. H. Wu, and K. W. Tam, Effects of manual lymphatic drainage on breast cancer-related lymphedema: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *World J. Surg. Oncol.*, **11**, 15 (2013).
 71. M. Neshatian, S. Chung, D. Yohan, C. Yang, and D. B. Chithrani, Determining the size dependence of colloidal gold nanoparticle uptake in a tumor-like interface (hypoxic), *Colloids Interface Sci. Commun.*, **1**, 57-61 (2014).
 72. M. Yang, Y. Liu, W. Hou, X. Zhi, C. Zhang, X. Jiang, F. Pan, Y. Yang, J. Ni, and D. Cui, Mitomycin C-treated human-induced pluripotent stem cells as a safe delivery system of gold nanorods for targeted photothermal therapy of gastric cancer, *Nanoscale*, **9**, 334-340 (2017).
 73. S. Wang, Z. Teng, P. Huang, D. Liu, Y. Liu, Y. Tian, J. Sun, Y. Li, H. Ju, X. Chen, and G. Lu, Reversibly extracellular pH controlled cellular uptake and photothermal therapy by PEGylated mixed-charge gold nanostars, *Small*, **11**, 1801-1810 (2015).
 74. Y. Du, Q. Jiang, N. Beziere, L. Song, Q. Zhang, D. Peng, C. Chi, X. Yang, H. Guo, G. Diot, V. Ntziachristos, B. Ding, and J. Tian, DNA-nanostructure-gold-nanorod hybrids for enhanced in vivo optoacoustic imaging and photothermal therapy, *Adv. Mater.*, **28**, 10000-10007 (2016).
 75. S. Kang, S. H. Bhang, S. Hwang, J. K. Yoon, J. Song, H.-K. Jang, S. Kim, and B.-S. Kim, Mesenchymal stem cells aggregate and deliver gold nanoparticles to tumors for photothermal therapy, *ACS Nano*, **9**, 9678-9690 (2015).
 76. Y. Liu, M. Yang, J. Zhang, X. Zhi, C. Li, C. Zhang, F. Pan, K. Wang, Y. Yang, J. Martinez de la Fuentea, and D. Cui, Human induced pluripotent stem cells for tumor targeted delivery of gold nanorods and enhanced photothermal therapy, *ACS Nano*, **10**, 2375-2385 (2016).
 77. N. Zhang, X. Xu, X. Zhang, D. Qu, L. Xue, R. Mo, and C. Zhang, Nanocomposite hydrogel incorporating gold nanorods and paclitaxel-loaded chitosan micelles for combination photothermal-chemotherapy, *Int. J. Pharm.*, **497**, 210-221 (2016).
 78. M. Singh, D. C. C. Harris-Birtill, Y. Zhou, M. E. Gallina, A. E. G. Cass, G. B. Hanna, and D. S. Elson, Application of gold nanorods for photothermal therapy in ex vivo human oesophagogastric adenocarcinoma, *J. Biomed. Nanotechnol.*, **12**, 481-490 (2016).
 79. S. I. Hussein, A. S. Sultan, and N. Y. Yaseen, Gold nanoparticles for photothermal therapy of cancerous cells in vitro, *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, **5**, 261-266 (2016).
 80. X. Kang, X. Guo, X. Niu, W. An, S. Li, Z. Liu, Y. Yang, N. Wang, Q. Jiang, C. Yan, H. Wang, and Q. Zhag, Photothermal therapeutic application of gold nanorods-porphyrin-trastuzumab complexes in HER2-positive breast cancer, *Sci. Rep.*, **7**, 42069 (2017).
 81. M. Yu, F. Guo, J. Wang, F. Tan, and N. Li, Photosensitizer-loaded pH-responsive hollow gold nanospheres for single light-induced photothermal/photodynamic therapy, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **7**, 17592-17597 (2015).
 82. E. L. L. Yeo, J. U. J. Cheah, D. J. H. Neo, W. I. Goh, P. Kanchanawong, K. C. Soo, P. S. P. Thong, and J. C. Y. Kah, Exploiting the protein corona around gold nanorods for low-dose combined photothermal and photodynamic therapy, *J. Mater.*

- Chem. B*, **5**, 254-268 (2017).
83. M. Aioub, S. R. Panikkanvalappil, and M. A. El-Sayed, Platinum-coated gold nanorods: efficient reactive oxygen scavengers that prevent oxidative damage toward healthy, untreated cells during plasmonic photothermal therapy, *ACS Nano*, **11**, 579-586 (2017).
 84. Y. C. Ou, J. A. Webb, S. Faley, D. Shae, E. M. Talbert, S. Lin, C. C. Cutright, J. T. Wilson, L. M. Bellan, and R. Bardhan, Gold nanoantenna-mediated photothermal drug delivery from thermo-sensitive liposomes in breast cancer, *ACS Omega*, **1**, 234-243 (2016).
 85. M. R. K. Ali, H. R. Ali, C. R. Rankin, M. A. El-Sayed, Targeting heat shock protein 70 using gold nanorods enhances cancer cell apoptosis in low dose plasmonic photothermal therapy, *Biomaterials*, **102**, 1-8 (2016).
 86. B. K. Jung, Y. K. Lee, J. Hong, H. Ghandehari, and C. O. Yun, Mild hyperthermia Induced by gold nanorod-mediated plasmonic photothermal therapy enhances transduction and replication of oncolytic adenoviral gene delivery, *ACS Nano*, **10**, 10533-10543 (2016).
 87. B. K. Wang, X. F. Yu, J. H. Wang, Z. B. Li, P. H. Li, H. Wang, L. Song, P. K. Chu, and C. Li, Gold-nanorods-siRNA nanoplex for improved photothermal therapy by gene silencing, *Biomaterials*, **78**, 27-39 (2016).
 88. F. Pene, E. Courtine, A. Cariou, and J. P. Mira, Toward theragnostics, *Crit. Care Med.*, **37**, S50-S58 (2009).
 89. C. J. Orendorff, A. Gole, T. K. Sau, and C. J. Murphy, Surface-enhanced Raman spectroscopy of self-assembled monolayers: sandwich architecture and nanoparticle shape dependence, *Anal. Chem.*, **77**, 3261-3266 (2005).
 90. D. Radziuk and H. Moehwald, Highly effective hot spots for SERS signatures of live fibroblasts, *Nanoscale*, **6**, 6115-6126 (2014).
 91. W. Li and X. Chen, Gold nanoparticles for photoacoustic imaging, *Nanomedicine (Lond.)*, **10**, 299-320 (2015).
 92. T. Wang, D. Halaney, D. Ho, M. D. Feldman, and T. E. Milner, Two-photon luminescence properties of gold nanorods, *Biomed. Opt. Express*, **4**, 584-595 (2013).
 93. L. Y. Bai, X. Q. Yang, J. An, L. Zhang, K. Zhao, M. Y. Qin, B. Y. Fang, C. Li, Y. Xuan, X. S. Zhang, Y. D. Zhao, and Z. Y. Ma, Multifunctional magnetic-hollow gold nanospheres for bimodal cancer cell imaging and photothermal therapy, *Nanotechnology*, **26**, 315701 (2015).
 94. M. Sun, F. Liu, Y. Zhu, W. Wang, J. Hu, J. Liu, Z. Dai, K. Wang, Y. Wei, J. Bai, and W. Gao, Salt-induced aggregation of gold nanoparticles for photoacoustic imaging and photothermal therapy of cancer, *Nanoscale*, **8**, 4452-4457 (2016).
 95. O. Betzer, R. Ankri, M. Motiei, and R. Popovtzer, Theranostic approach for cancer treatment: multifunctional gold nanorods for optical imaging and photothermal therapy, *J. Nanomater.*, **2015**, 7 (2015).
 96. Y. Liu, M. Xu, Q. Chen, G. Guan, W. Hu, X. Zhao, X. Qiao, H. Hu, Y. Liang, H. Zhu, and D. Chen, Gold nanorods/mesoporous silica-based nanocomposite as theranostic agents for targeting near-infrared imaging and photothermal therapy induced with laser, *Int. J. Nanomed.*, **10**, 4747-4761 (2015).
 97. C. Du, A. Wang, J. Fei, J. Zhao, and J. Li, Polypyrrole-stabilized gold nanorods with enhanced photothermal effect towards two-photon photothermal therapy, *J. Mater. Chem. B*, **3**, 4539-4545 (2015).
 98. M. Azhdarzadeh, F. Atyabi, A. A. Saei, B. S. Varnamkhasi, Y. Omidi, M. Fateh, M. Ghavami, S. Shانهsazzadeh, and R. Dinarvand, Theranostic MUC-1 aptamer targeted gold coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles for magnetic resonance imaging and photothermal therapy of colon cancer, *Colloids Surf., B*, **143**, 224-232 (2016).