

다약제 내성 암에 대한 초상자성 산화철 나노 입자와 펄스형 전자기장을

이용한 치료 기술 개발

최선민, 장휘진, 조혜연, 김가희, 이재홍*

연세대학교 보건과학대학 의공학부

The therapeutic effect of MDR cancer cells using SPIONs and PEMF

Seonmin Choi, Hwijin Jang, Hyeyoun Cho, Gahee Kim, Jaehong Key*
Department of Biomedical Engineering, Yonsei University, Gangwon-do, Korea
*jkey@yonsei.ac.kr

Abstract

Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) with a hydrophilic surface can be used as one of the cancer theranostic applications as MR imaging and hyperthermia agent. A pulsed electromagnetic field (PEMF) as an external stimulus is a non-invasive and effective method that modulates the frequency, intensity, and exposure time at a specific target area. The combined treatment effect with SPION and PEMF is expected to present a new paradigm of cancer treatment to diagnose and induce apoptosis in multidrug-resistant (MDR) cancer cells. This study suggested methods for converting the hydrophilic SPIONs from hydrophobic SPIONs via ligand exchange and applying them to pulsed electromagnetic fields.

1. 연구 배경

자성 나노 입자는 다양한 종류의 암 치료 및 진단에 많이 활용되어 왔으며, 나노 크기의 이점을 포함해 시각적, 자성적, 전기적 특성으로 인해 검진과 진단, 치료까지 생의학적 분야에서 활용도가 높은 부분이다[1]. 특히 초상자성 산화철 나노물질은 자기공명영상, 약물 전달 및 표적 전달, 고열 효과로 인한 세포 사멸 등 넓은 범위의 생의학적 분야에서 활용되고 있는, 임상적으로 FDA 승인을 받은 물질이다. 초상자성이란 외부 자성이나 자기장의 영향이 없을 시에는 자성의 효과를 띄지 않다가 외부의 자극에 의해 자성의 효과를 나타내는 물질의 특성이 있다[2].

초상자성 산화철은 암 치료적 관점에서 자성의 특성을 이용한 자성 입자 이미징(Magnetic Particle Imaging: MPI)와 자기 공명영상(Magnetic Resonance Imaging: MRI) 등으로 이미징을 통한 진단이 가능하며[3], 외부적 자기장에 의해 암 세포 사멸 정도의 열을 올리는 온열효과(Hyperthermia)는 새로운 대안 치료법으로 관심을 받고 있다[4, 5]. 초상자성 산화철 나노 코어의 표면 개질을 통해 약물, RNA 등을 결합하여 외부 자기장에 의해 목표 지점에 대해 자성 이끌림(Magnetic attraction)을 통한 타겟팅이 가능하다는 점을 통해 약물전달 체계 방식에서도 중요한 부분을 차지하고 있다.

전자기장을 이용한 치료법은 생체 조직에 전류를 생성시킬 수 있는 3-3000Hz 사이의 주파수와 지속 시간을 이용하여 발생하는 자기장의 효과를 이용하는 방식이다. 전자기장의 범주 중 펄스형 전자기장 치료법은 동적인 에너지를 통해 발생하는 미세 전류를 생체 내 목표 지점에 자극하는 방식을 말한다. 자기장에 의해 유도되는 미세 전류는 자극 세기, 주파수, 파형 등과 같은 자기장의 조건에 따라

달라지며 특정 생체 반응을 일으킨다[6, 7]. 5-300Hz 범위의 펄스형 전자기장으로의 노출은 골다공증, 파킨슨 병, 부상 치료 등 혈관 확장 및 신생 혈관을 촉진하는 치료 모듈로 알려져 있으며, 자극에 대한 특이적 반응을 통한 약물 전달에 대한 효율성 증가를 기대하며 PEMF 치료법은 화학 요법과 방사선 요법의 보조요법으로 사용될 수 있다[8, 9].

본 연구에서는 다약제 내성의 암세포에서의 약물 반응 한계점을 극복하기 위해 초상자성 산화철 나노 코어와 펄스형 전자기장 치료 효과를 이용하였다. 초상자성 산화철 나노 입자 및 펄스형 전자기장과의 결합 치료 효과를 통해, Enhanced permeability and retention (EPR) 효과 및 자성 이끌림을 통한 암 종양 특이적 표적 전달 및 초상자성 산화철과 전자기장으로의 세포 특이적 반응으로 인한 활성산소 유발을 확인하여, 다약제 내성 암세포에서의 특이적 진단 및 사멸 유도를 통한 암 치료의 새로운 패러다임을 제시할 것으로 예상된다.

2. 연구 방법

실험에 합성된 초상자성 산화철 나노입자는 현택환 교수님의 논문의 방식을 참고한, 열분해 방식을 통해 합성을 했다. 간단하게, Iron chloride hexahydrate와 Sodium oleate를 60°C에서 4시간 반응시킨다. 반응물을 증류수에 세척 작업을 거친 뒤, 감압 농축을 통해 Iron Oleate를 생성한다. 생성된 Iron Oleate와 Oleic acid를 320°C에서 30분 반응시킨 뒤 에탄올을 통해 세척을 진행하고, 공침 방식을 통해 침전물을 톨루엔에 녹여 초상자성 산화철 코어를 얻는다.

리간드 교환의 방식을 통해 소수성 초상자성 산화철 코어를 친수성 초상자성 산화철 코어로 변환할 수 있다. 톨루엔에 녹여져 있는 Oleic acid로 코팅된 초상자성 산화철

코어와 dimercaptosuccinic acid (DMSA)를 함께 섞어 24시간 동안 반응시킨다. 반응 후 원심분리를 통해 얻은 침전물을 증류수에 세척하고 다시 한번 원심분리를 통해 얻은 침전물을 물에 녹여 친수성 초상자성 산화철 코어를 얻을 수 있다.

용매에 녹아져 있는 산화철 코어의 철은 Ferene-S assay 방식을 통해 정량하며, 생산한 산화철 코어는 Dynamic light scattering (DLS)과 TEM 이미지를 통해 입자의 Size를 확인할 수 있었으며, 증류수와 톨루엔을 통해 소수성 초상자성 산화철 코어와 친수성 초상자성 산화철 코어의 위상을 비교 분석하였다.

펄스형 전자기장은 파라미터 조건에 따라 생체 내에서 다른 효과를 유도한다고 밝혀져 있다. 따라서 본 연구에서는 주파수 (10~100Hz), 자속 밀도 (~20mT), 펄스 폭 (20~30% duty cycle), 자극 시간 (~4 시간)의 파라미터 조건에 대한 영향을 분석할 계획이다.

3. 연구 결과 및 토의

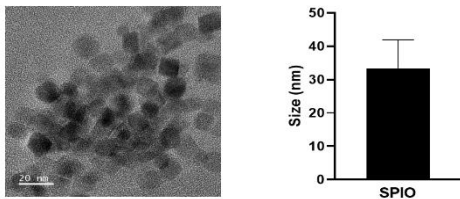


그림 1. TEM image and size measured by Dynamic light scattering of Hydrophobic Superparamagnetic iron oxide

소수성 초상자성 산화철 나노입자의 크기를 DLS로 측정해본 결과, 50nm로 측정됨을 볼 수 있으며, TEM의 결과인 13~15nm과 약간의 차이가 나는 것을 볼 수 있다. 소수성 초상자성 산화철의 표면은 카르복실기가 말단에 나타나는 Oleic acid로 코팅 되어있다. 이로 인해 용매에서의 측정인 DLS에서의 측정이 유체역학적 지름으로 인해 크게 나온 것으로 보여진다.

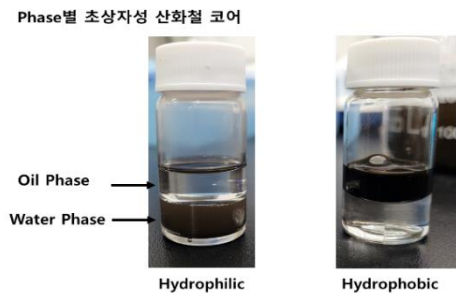


그림 2. Phase difference of SPIOs by ligand exchange.

위와 같은 특성의 소수성 초상자성 산화철을 ligand exchange의 방법에 따라 Oleic acid를 DMSA로 교환하면, 그림 1과 같이, Oil Phase에 녹아져 있는 소수성 초상자성 나노 코어가 Water Phase로 전환되어 녹는 것을 볼 수 있다. 이를 통해 친수성 초상자성 산화철 나노 코어가 되었음을 알 수 있다.

기존 항암제나 표적치료제에 반응하지 않는 악성 유방암인 삼중 음성 유방암인 MDA-MB-231 cell을 기준으로, 펄스형 전자기장에 대한 사멸 유도 조건 (세기 및 주파수, 지속 시간 등)에 대한 설정 및 그에 대한 사멸 유도를 확인

하고, 친수성 초상자성 산화철 및 펄스형 전자기장에 대한 사멸 유도 확인을 통해, MDR 암 세포 치료 효율을 평가하고자 한다.

MDR 암은 현재 사용되는 항암제의 치료효과를 낮추고 재 발율을 높이는 주요 원인이 되고 있다. 본 연구에서 평가하고자 하는 SPIONs와 PEMF의 조합은 암조직에 대한 나노입자의 표적화율과 조직 내의 침투율을 높이고, 세포 사멸을 유도함으로써 기존의 치료제에서 나타내지 못한 개선된 치료법을 제시할 수 있을 것으로 기대된다.

4. Acknowledgements

이 연구는 National Research Foundation of Korea (NRF) 과제 지원을 받아 수행하였음. (NRF-2018-R1D1-A1-B070-42339 and NRF-2019-K2A9A2A08000123)

5. 참고 문헌

- Huh, Y.M., et al., *In vivo magnetic resonance detection of cancer by using multifunctional magnetic nanocrystals*. Journal of the American Chemical Society, 2005. **127**(35): p. 12387-12391.
- Singh, N., et al., *Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION)*. Nano Rev, 2010. **1**.
- Franke, J., et al., *System Characterization of a Highly Integrated Preclinical Hybrid MPI-MRI Scanner*. IEEE Trans Med Imaging, 2016. **35**(9): p. 1993-2004.
- Guthkelch, A.N., et al., *Treatment of malignant brain tumors with focused ultrasound hyperthermia and radiation: results of a phase I trial*. J Neurooncol, 1991. **10**(3): p. 271-84.
- Sadhukha, T., T.S. Wiedmann, and J. Panyam, *Inhalable magnetic nanoparticles for targeted hyperthermia in lung cancer therapy*. Biomaterials, 2013. **34**(21): p. 5163-71.
- Iannitti, T., et al., *Pulsed electromagnetic field therapy for management of osteoarthritis-related pain, stiffness and physical function: clinical experience in the elderly*. Clin Interv Aging, 2013. **8**: p. 1289-93.
- Woo, S.H., et al., *Pulsed electromagnetic field potentiates etoposide-induced MCF-7 cell death*. BMB Rep, 2022. **55**(3): p. 148-153.
- Vadala, M., et al., *Mechanisms and therapeutic applications of electromagnetic therapy in Parkinson's disease*. Behav Brain Funct, 2015. **11**: p. 26.
- Lee, J.W., et al., *Effect of pulsed electromagnetic fields stimulation on ischemic skin model*. Electromagn Biol Med, 2022. **41**(1): p. 15-24.