

# 폐암 진단 및 치료를 위한 마이크로-나노약물전달체 개발

김가희, 박상효, 장휘진, 조혜연, 이재홍\*

연세대학교 의공학과

## Development of micro-nano drug delivery system for lung cancer diagnosis and treatment

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

### Abstract

Lung cancer is a disease with a high incidence and mortality worldwide, and is difficult to cure and has a high recurrence rate. It is essential to develop a drug delivery system for effective lung cancer diagnosis and treatment. Size, shape, material, and surface charge of a drug carrier affect bio-distribution, particle stability, and drug release pattern. 3 $\mu$ m particles are known to accumulate well in the lungs. Docetaxel is a widely used anticancer drug to treatment lung cancer. Cathepsin G (Cat G) is a serine protease stored in neutrophil granules and is considered a major factor in inflammation. In this study, negatively charged polyglycolic acid(PGA)-based discoidal polymeric particles(DPP) and positively charged nanoparticles(NP) were combined through electrostatic force. In addition, by applying the anticancer drugs docetaxel and cathepsin G sensor, we tried to develop particles that can diagnose and treat lung cancer at the same time.

### 1. 연구 배경

폐암은 전 세계적으로 발병률과 사망률이 높은 질병으로 2020년 전 세계 암 발생 2위, 사망 1위를 기록하였으며 진단 후 5년 생존률이 15% 이하로 매우 낮다[1]. 이렇게 폐암의 사망률이 높은 이유는 진단 환자의 70%가 이미 진행된 병기에 해당하여 완치가 어렵고 치료 후 5년 이내에 40%가 재발할 정도로 재발률이 높기 때문이다. 따라서 약물전달시스템(DDS)개발은 효과적인 폐암 진단 및 치료 방법이 될 수 있다.

약물전달체의 크기, 형태, 재료, 표면 전하와 같은 특성은 생체분포, 입자의 안전성, 약물방출양상에 영향을 준다. 다양한 크기와 형태의 입자 중 3 $\mu$ m 크기의 디스크모양의 입자(DPP)는 폐에 집중적으로 축적되는 것으로 알려져 있다[2-3]

폐암 치료에는 폐암의 미세소관 분리를 방해하여 작용하는 Taxel계열의 항암제가 널리 쓰이고 있다. 특히 Docetaxel은 폐암을 비롯한 여러 유형의 암을 치료하는데 널리 사용되는 항암제이며, 비소세포폐암에서 Paclitaxel 보다 효과적이라고 알려져있다[4]. 그러나 약물이 암세포와 마찬가지로 빠르게 증식하는 특성을 가진 정상세포에도 비특이적으로 작용하고, 몸 전체로 퍼지기 때문에 설사, 체중변화, 탈모, 백혈구수 저하 등 다양한 부작용을 일으킬 수 있다.

한편 염증은 암 발병을 유발하고 종양 형성의 모든 단계를 촉진한다. Cathepsin G(Cat G)는 호중구 과립에 저장되어있는 serine protease로 면역세포의 기능적 상태를 제어하며 전통적으로 염증의 주요 인자로 여겨진다[5]. 따라서 호중구 내부에 발현된 Cat G를 특이적으로 감지할 수 있다면 폐암의 진단에 활용할 수 있을 것이다.

본 연구에서는 폐암 진단 및 치료가 동시에 가능한 약물전달시스템을 개발을 위해 가수분해성이 높고 생체적합한 PGA(Polyglycolic acid) 기반의 3 $\mu$ m DPP와 docetaxel, Cat G 센서를 이용하였다. 음전하의 PGA DPP 표면에 Cat G 센서가 결합되어있는 양전하의 나노입자(NP)를 정전기적 인력으로 결합하였으며, 결합된 NP와 docetaxel은 시간이 지남에 따라 PGA의 높은 가수분해 특성으로 분리 및 방출되어 폐암에 효과적으로 작용하도록 설계하였다. 또한 암을 비롯한 염증주변 환경이

상산화환경이라는 점에서 pH에 따른 약물방출량과 NP의 분리속도 변화를 확인함으로써 본 연구에서 제안하는 약물전달체가 폐암 미세환경에서 효과적으로 작동 가능한지 알아보하고자 하였다.

### 2. 연구 방법

#### 1. PEI-PLGA nanoparticles (NP) 생산

Oil-in-water emulsion 방식을 사용하여 NP를 생산하였다. PEI-PLGA polymer 30mg를 chloroform 1ml에 녹인 후 PVA (Polyvinyl alcohol) 2% solution 3ml에 dropwise로 넣어주었다. 5분간 충분히 vortex한 후 3분 간 초음파를 가해준 후 20분간 감압 증류하였다. 9,000 rpm에서 5분, 13,500 rpm에서 10분간 차례로 원심분리 후 NP를 수득하였다.

#### 2. 3 $\mu$ m discoidal polymeric particles (DPP) 생산

Docetaxel 50mg, PGA 46mg를 Dimethyl sulfoxide(DMSO)와 hexafluoroisopropano(HFIP) 300 $\mu$ l에 녹인 후 PVA형판에 loading하였다. PVA를 물에 녹이고 1.2 $\mu$ m pore size의 멤브레인 필터에 PGA DPP를 수득하였다.

#### 3. Hybrid particle (NP-DPP) 생산

생산된 NP와 DPP를 증류수상에서 2시간 동안 혼합한 후 4,000rpm에서 원심분리하여 NP-DPP를 수득했다.

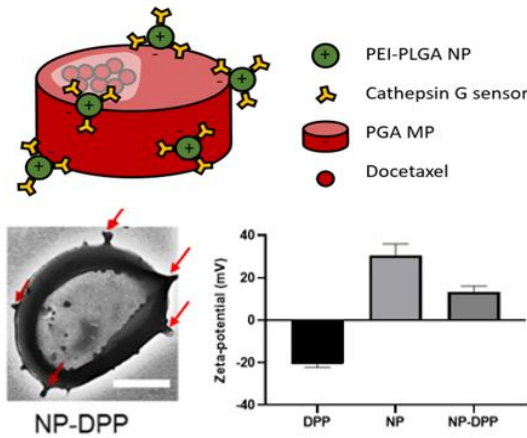
#### 4. Characterization

입자를 증류수에 분산하여 zetasizer(Nano zs90, Malvern Instruments, UK)로 시간에 따른 입자의  $\zeta$ -potential의 변화를 측정했다. 또한 Docetaxel을 적재한 DPP의 방출량 테스트는 PBS 용액 안에서 36 $^{\circ}$ C를 유지한 채 진행하였고, Multi-mode reader (Synergy HTX, vermont, USA)를 사용하여 255nm 파장에서 Absorbance를 측정했다.

### 3. 연구 결과

폐암 진단 및 치료를 위한 약물전달체 개발을 위해 설계된 PGA DPP 입자는 제타전위 -20.73mV로 음전하를 가지며, NP는 제타전위 +30.6mV로 양전하를 가짐을 확인하였다.

DPP와 NP를 정전기적 인력으로 결합한 후 제타전위를



확인한 결과 +13.36mV로 변화됨을 확인 하였다.  
 그림 1. NP-DPP의 모식도와 TEM 이미지 및 DPP, NP, NP-DPP의 제타 전위 (scale bar: 1 $\mu$ m)

pH에 따라 시간에 따른 DPP 표면의 NP의 분리속도 변화를 확인하기 위해 0, 2, 6, 24, 48시간에서의 제타전위를 확인하였다. pH는 7.4, 6.4, 5.4에서 진행되었으며 모든 pH에서 초반 2시간 사이에 가장 많은 제타전위 변화가 관찰되었다. 제타전위 변화량을 퍼센트로 환산해본 결과 72시간 후 pH 7.4에서는 0시간 대비 49.85%, pH 6.4에서는 44.40%, pH 5.4에서는 17.95%의 NP가 DPP 표면에 붙어있는 것으로 확인되었다. 이는 산성환경일수록 DPP 표면에서 NP가 빠르게 분리됨을 보여준다. 따라서 폐암의 미세환경인 산성환경에서 DPP에서 NP가 시간이 지남에 따라 효과적으로 분리될 수 있음을 의미한다.

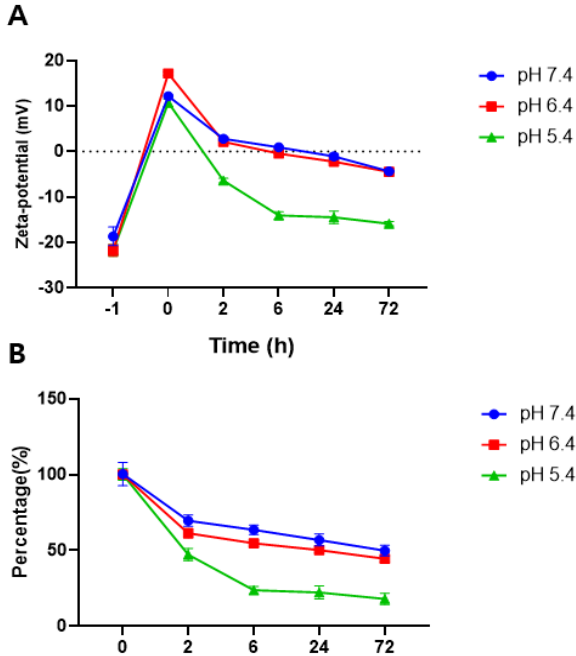
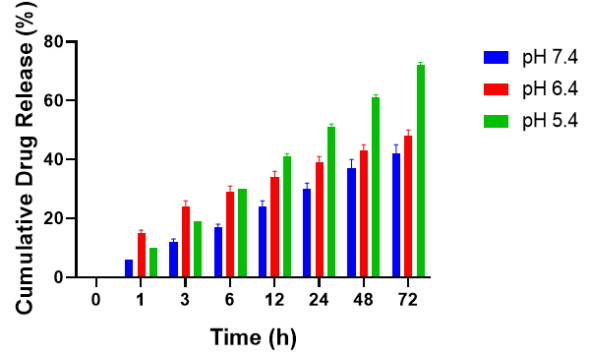


그림 2. NP-DPP의 산성 조건 별 시간에 따른 제타 전위 변화 및 퍼센트 환산, 양전하인 NP가 분리되면서 시간이 지남에 따라 음전하로 변화됨을 확인 할 수 있다.

pH에 따라 시간에 따른 DPP에서의 docetaxel 방출량 변화를 확인하기 위해 0, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72시간에서의 약물 방출량을 확인하였다. PGA DPP에 적재된 docetaxel의

loading amount는 약 17%였으며, 모든 pH에서 초반 6시간 사이에 약물 방출이 빠르게 일어났으며, 72시간후 pH 7.4에서는 0시간 대비 42%, pH 6.4에서는 48%, pH 5.4에서는 73%의 약물이 방출됨을 확인하였다. 이는 DPP표면에서 NP가 산성환경일수록 빠르게 분리되는것과



마찬가지로 산성환경일수록 약물 방출 또한 빠르게 분리됨을 보여준다.

그림 3. pH에 따른 DPP에 적재된 docetaxel 방출량 변화

따라서 본 연구에서는 폐암의 진단과 치료가 동시에 가능한 약물전달체를 개발하고자 하였다. 양전하의 NP와 음전하인 DPP가 정전기적 인력으로 결합되어있는 것을 TEM과,  $\zeta$ -potential의 변화를 통해 확인하였다. 또한 pH에 따라 시간에 따른 약물 방출량 변화와, DPP 표면의 NP의 분리 속도 변화를  $\zeta$ -potential의 변화를 통해 확인하였다. 그 결과 산성환경일수록 NP의 분리속도와 약물방출량이 증가함을 확인하였다. 이는 본 연구에서 제안하는 약물전달체가 산성 환경을 가지는 폐암에서 효과적으로 작동 가능할 것으로 예상된다. 향후 폐암 모델 mouse를 이용한 동물실험을 통해 실제로 본 연구에서 제안하는 입자가 폐암 진단 및 치료에 효과적으로 작용가능한지 확인 할 예정이다.

#### 4. Acknowledgements

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

#### 5.참고 문헌

[1] Sung, Hyuna, et al. "Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries." *CA: a cancer journal for clinicians* (2021).

Siegel, Rebecca, et al. "Cancer statistics, 2014." *CA: a cancer journal for clinicians* 64.1 (2014): 9-29.

[2] Decuzzi, P., et al. "Size and shape effects in the biodistribution of intravascularly injected particles." *Journal of Controlled Release* 141.3 (2010): 320-327.

[3] He, C., et al., Effects of particle size and surface charge on cellular uptake and biodistribution of polymeric nanoparticles. *Biomaterials*, 2010. 31(13): p. 3657-66.

[4] Esteban, E., Gonzalez de Sande, L., Fernandez, Y., Corral, N., Fra, J., Muniz, I., ... & Lacave, A. J. (2003). Prospective randomised phase II study of docetaxel versus paclitaxel administered weekly in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with platinum-based chemotherapy. *Annals of oncology*, 14(11), 1640-1647.

[5] Wiedow, O., and U. Meyer-Hoffert. "Neutrophil serine proteases: potential key regulators of cell signalling during

inflammation." *Journal of internal medicine* 257.4 (2005):  
319-328.