

암 진단용 자기공명영상 나노조영제

유미경 · 박진호 · 전상용

1. 서론

인구의 노령화, 식생활의 서구화 및 환경문제로 암 환자의 발생은 지속적으로 증가하고 있으나 기존의 진단 및 치료 기술의 낮은 효능 및 부작용 때문에 암을 극복하는 데에는 한계가 있어왔다. 특히 암 치료에 앞서 암의 조기진단은 환자의 생사를 결정할 수 있을 정도로 매우 중요하므로 질병의 조기발견과 정확한 진단을 위한 새로운 패러다임 기술로써 진단용 의약품에 대한 기술개발이 요구되고 있다. 이에 따라 최근 나노기술의 발전과 더불어 새로운 물리적, 화학적, 광학적 특성을 가지는 나노크기의 소재들을 바이오/의약 분야에 응용하는 연구가 활발히 진행되면서 나노의약품(nanomedicine) 개발의 중요성이 증대되고 있다. 나노의약품이란 각종 신체질환을 효율적으로 치료하고 진단하기 위해 나노미터(10억분의 1미터) 수준을 제어하는 나노기술을 도입하여 제조한 의약품으로 지난 2006년, MIT에서 발표한 세상을 변화시킬 10가지 신기술 중의 하나로 선정된 바 있다. 국가별 특허출원건수 분석에 의하면 현재 미국이 나노기술혁신 리더로 연구개발 투자에 집중하고 있는 것으로 나타나고 있으며 그 예로

2004년도 하반기부터 미국 보건복지부 산하 국립암센터(National Cancer Institute)에서는 '나노기술을 이용한 암 진단 및 치료'에 관련된 6-8개의 혁신센터를 설립하여 년 간 1,000억 이상을 지원하고 있는 것으로 보고되었다. 진단용 나노기술로는 자기공명영상(magnetic resonance imaging, MRI) 조영제 개발 기술이 전체의 87%로 압도적으로 연구개발이 집중되고 있는 것으로 집계되었다. MRI는 양성자에서 나오는 신호를 측정하는 것으로 횡단면, 관상면 및 시상면 등을 필요한 각도로 자유자재로 촬영할 수 있는 진단영상 방법으로 기존 X-ray 관련 영상기기의 방사능 노출에 따른 위험이 없는 장점을 가지고 있다. MR 영상의 선명도 및 정확도를 증가시키기 위해 조영제를 사용하는데, 1988년 처음 MRI 조영제(contrast agent)가 시판된 이후 X-ray 촬영 시 확인 불가능했던 부분이 관찰 가능하게 되면서 MRI는 암의 조기진단에 가장 많이 이용되고 있으며 임상에서의 사용영역도 점차 증대되고 있다. 특히 MRI 조영제 중 나노기술을 이용한 초상자성 산화철(superparamagnetic iron oxide, SPIO) 계열을 기본으로 하는 콜로이드 나노입자 용액은 조영효과가 뛰어나 MRI 조영제로써 연구 가능성 및 효과의 잠재성이 크다. 본 특집에서는 나노입자를 이용한 암 진단의 원리를 설명하고, 진단용 MRI 나노조영제로서 SPIO 조영제의 종류와 생체적합성 무기물 및 유기물을 이용한 조영제 개발의 최근 연구동향 및 암 진단의 예를 기술하고자 한다.



유미경

2004 건국대학교 신소재공학과(학사)
2006 광주과학기술원 신소재공학과(석사)
2006~ 현재 광주과학기술원 생명과학과 박사과정

2. 본론

2.1 나노입자를 이용한 암 진단의 원리

나노입자를 암에 표적지향하기 위한 전략은 암세포 주변혈관의 특



박진호

2006 경북대학교 응용화학공학과(학사)
2007~ 현재 광주과학기술원 생명과학과 석사과정



전상용

1993 한국과학기술원 화학과(학사)
1995 한국과학기술원 화학과(석사)
1999 한국과학기술원 화학과(박사)
1999~ 2002 포항공과대학교 지능초분자연구단 박사후연구원
2004 MIT 화학공학과 박사후 연구원
2007 광주과학기술원 생명과학과 조교수
2007~ 현재 광주과학기술원 생명과학과 부교수

Magnetic Resonance Imaging Nano-Agents for Cancer Imaging

광주과학기술원 생명과학과 (Mi Kyung Yu, Jinho Park, and Sangyong Jon, Department of Life Science, Gwangju Institute of Science and Technology (GIST), 1 Oryongdong, Bukgu, Gwangju 500-712, Korea) e-mail: syjon@gist.ac.kr

이한 구조에 기인하고 있으며 크게 수동적 표적지향(passive targeting)과 능동적 표적지향(active targeting)으로 나눌 수 있다. 급진적으로 성장하는 암 조직은 자라면서 많은 영양분과 산소를 필요로 하는데 이를 공급하기 위하여 암 세포는 신생혈관을 형성한다. 이때 혈관을 만드는 시간이 충분하지 않으므로 혈관세포는 촘촘하지 못하고 열기설기한 구멍을 갖게 되며 그 크기는 400~600 nm로 알려져 있다. 수동적인 표적지향 전략은 이러한 형성된 구멍을 통해 수십~수백 나노미터 크기의 입자들이 암 조직으로 들어가게 하는 것이다. 또한 암 조직 주변에는 면역계가 파괴된 경우가 많아 림프관들이 제 역할을 하지 못하는 경우가 대부분이기 때문에 암 조직으로 침투한 나노 물질들은 배출되지 않고 오랫동안 머무르면서 암 세포에 영양력을 끼칠 수 있다. 이러한 현상을 enhanced permeability and retention(EPR) 효과라고 하며 이를 통해 암의 진단 효능을 높이고자 하는 노력이 활발히 이루어지고 있다. 능동적 표적지향 전략은 암 세포 표면이나 신생혈관에 과다 발현되는 특정 항원이나 수용체에 선택적으로 결합할 수 있는 표적지향 리간드를 나노입자에 포함시킴으로써 수동적 전략에 비해 빠르고 효과적으로 나노입자를 암으로 전달

할 수 있다(그림 1).

2.2 나노입자의 체내 전달시 고려해야 할 점

나노입자를 생체 내로 주입할 경우 첫째, 혈액 속에서 응집되지 않고 잘 분산되어 적당한 시간 동안 순환할 수 있는 특성(long circulating property)이 요구되어진다. 그러나 나노입자는 표면적이 크기 때문에 다양한 혈장 단백질(opsonins, complement fragments, serum albumins, antibodies) 및 염 등이 표면에 달라붙는 바이오파울링(biofouling) 현상 때문에 응집이 잘 일어나고 따라서 간의 Kupffer 세포나 비장의 대식세포(macrophage)와 같은 망상내피세포(reticuloendothelial system, RES)에 의하여 쉽게 제거될 수 있다(그림 2). 이는 몸속에 투여된 지 수 분 내에 나노입자를 혈액에서 없애는 것과 같으므로 EPR 효과를 기대할 수 없으므로 원하는 암 조직에도 도달할 수 없게 만든다. 둘째로, 산화철 나노입자의 경우 생체 내에서 충분히 안정하지 않으면 본래 구조가 변해서 자기적인 특성이 변하거나 빠르게 생분해가 일어날 수 있다. 따라서 poly(ethylene glycol) (PEG), dextran, poly(vinyl pyrrolidone) (PVP) 등의 합성 및 천연고분자를 이용하여 나노입자 표면을 코팅 처리하여 생체

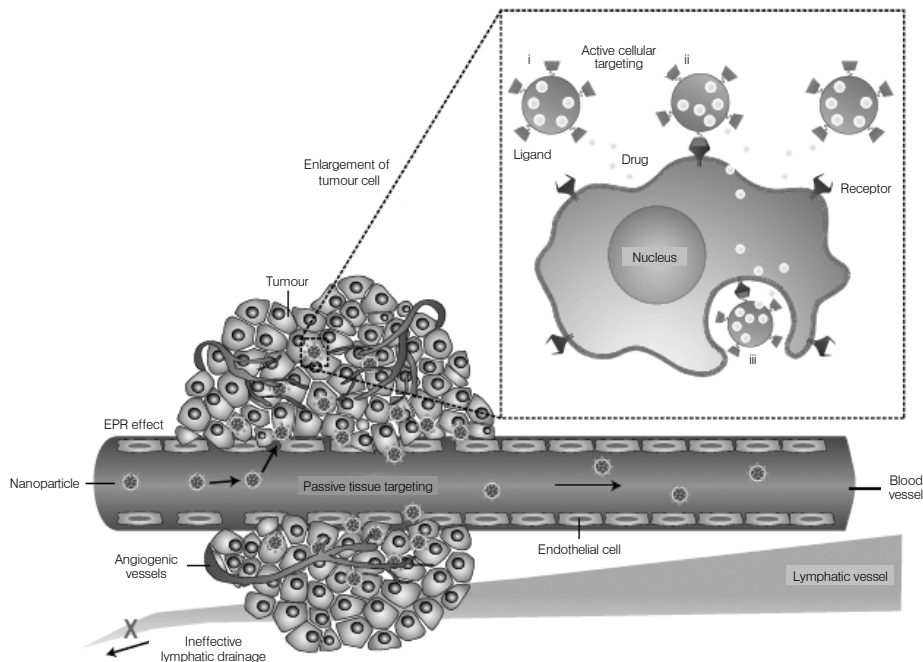


그림 1. 나노입자를 암으로 전달하는 수동적 및 능동적 전략.¹

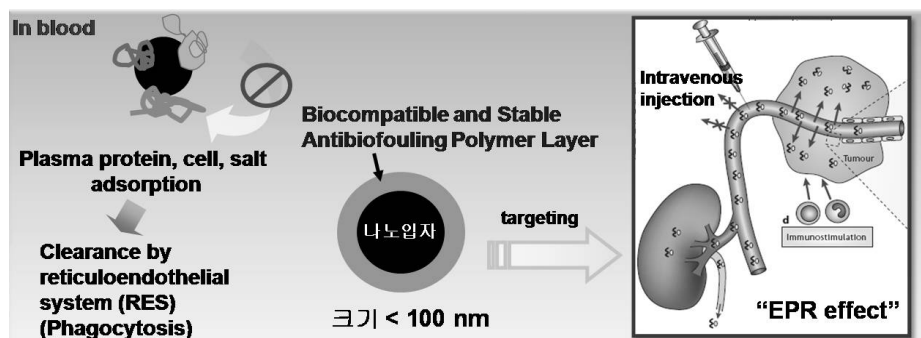


그림 2. 나노입자의 생체 내에서의 운명.

적합성 및 안정성을 증가시키는 기술이 연구되고 있는데, 특히 PEG는 나노입자의 Phagocytosis를 저해함으로써 망상내피세포에 의해서 제거되는 현상을 효과적으로 막을 수 있다고 알려져 있으며 이를 ‘스텔스(stealth)’ 효과라고도 한다. 셋째, 나노입자의 크기를 100 nm 이하로 제조하는 것이 요구되어 지는데 만약 나노입자의 크기가 생체내에서 이보다 클 경우 암 조직이 아닌, 주로 간이나 비장에 있는 대식세포들에 의해 제거되거나 미세혈관이 많이 분포하고 있는 폐 등에 도달하게 된다. 마지막으로 나노입자의 모양 및 표면 성질도 생체편재율(biodistribution)에 영향을 미칠 수 있다고 알려져 있다. 구형인지 타원형인지, 딱딱한지 말랑한지, 부드러운지 꺼칠한지 등에 따라 같은 크기의 나노입자라도 조직 침투율이나 혈액 순환시간에 영향을 줄 수 있는데, 대표적인 예가 적혈구로서 판상형의 모양과 변형이 자유로운 특성을 가지고 있어 혈액 속을 장기간 돌아다닐 수 있다.

2.3 암 진단용 MRI 나노조영제

대표적인 MRI 나노조영제로서 초상자성을 띠는 SPIO 나노입자가 연구되고 있다. SPIO 조영제는 상자성체 조영제(Gd, Fe, Mn 등의 전 이금속 이온)에 비하여 민감도가 뛰어나고 독성이 없으며 생체 안에서 빠르게 배출되는 특징을 갖고 있어 현재 전 세계적으로도 많은 관심을 받고 있다. 조영 원리는 조영제가 전달된 부위의 양성자와 일시적인 상호작용을 통해 T2 이완시간을 감쇄시키고, T2 영상에서 신호

를 감소시켜 주변조직보다 이미지를 어둡게 만든다. 따라서 이를 음성 조영제 또는 T2 조영제라고도 하며 특정 부위나 종양 등의 진단에 주로 이용되고 있다.

2.3.1 SPIO 조영제의 구조 및 특징

SPIO 조영제는 중심부(core)와 표면 코팅층(surface coating layer)으로 이루어져 있는 나노 크기의 입자이다. 중심부는 magnetite(Fe_3O_4) 또는 maghemite($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) 등의 철 산화물로 구성되며 격자구조로 이루어져 있다. 이들은 쌍을 이루지 않는 스핀이 독립적으로 자기모멘트를 나타내는 마그네틱 도메인을 갖고 있는데, 스핀이 자유자재로 배열되어 있기 때문에 평소에는 자성을 띠지 않다가 외부 자기장을 받게 되면 스핀의 재배열로 자기모멘트가 한 방향을 향하게 된다(그림 3). 이때의 자성은 상자성체보다 크며 다시 자기장을 제거하면 더 이상 자성을 띠지 않아 잔류자기(remanence)가 없다고 표현하고 이러한 특성을 초상자성이라고 한다(그림 4). 반면 강자성체(ferromagnetic materials)는 자화능력은 크나 자기장을 제거해도 잔류자기나 보자력(coercivity)이 남아있어 나노입자가 응집될 수 있고 혈관의 색전(embolism) 등을 유래하여 혈관 폐색의 위험이 있을 수 있으므로 조영제로의 이용이 어렵다. 따라서 SPIO 조영제의 초상자성 특성은 중심부의 높은 자화 능력 및 잔류자기가 없다는 장점 때문에 MRI 조영제로의 이용뿐 아니라 약물전달 등의 다양한 이용이 가능하다.

한편, 순수한 산화철 자성물질은 수용액 상에서 서로 응집하려는 경

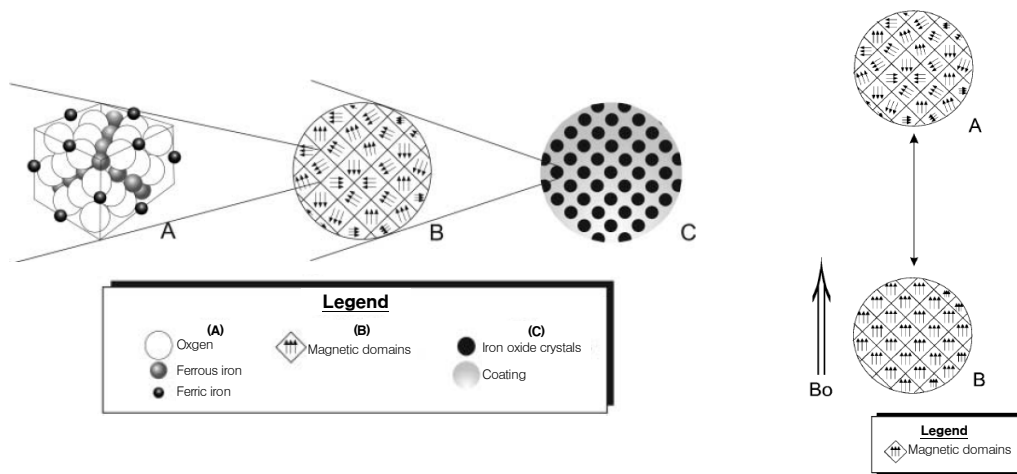


그림 3. SPIO의 구조 및 마그네틱 도메인.²

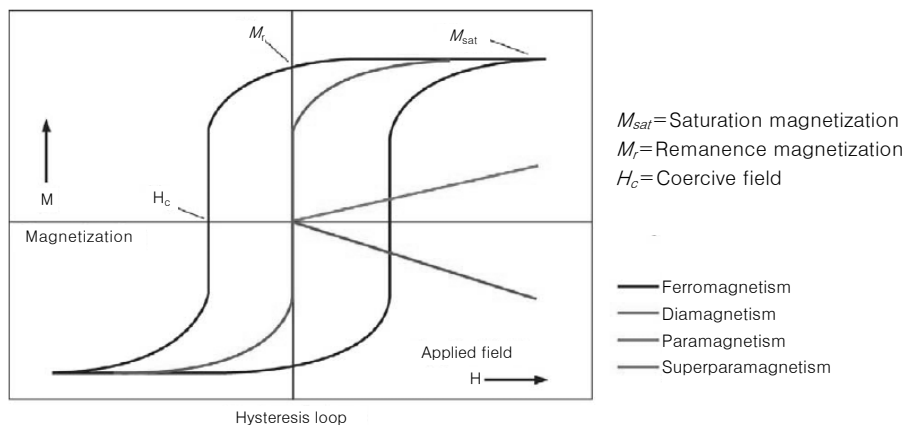


그림 4. 외부자기장에 대한 자성체들의 자력변화.³

표 1. 현재 시판 및 임상 중인 SPIO 조영제의 종류⁴

Agent	Class	Trade and common names	Status	Mean particle size
AMI-121	Oral SPIO	Lumirem, Gastromark, Ferumoxsil	Approved	>300 nm
OMP	Oral SPIO	Abdoscan	Approved	3.5 μm
AMI-25	SSPIO	Feridex, Endorem, Ferumoxide	Approved	80~150 nm
SHU555A	SSPIO	Resovist	Phase III	62 nm
AMI-227	USPIO	Sinerem, Combidex, Ferumoxtran	Phase III	20~40 nm
NC100150	USPIO	Clariscan	Completed phase II (discontinued)	20 nm
CODE 7228	USPIO	(Advanced magnetics)	Phase II	18~20 nm

항이 있어 안정하지 못하므로 생체 내에서 조영제로 사용할 수 없다. 따라서 표면을 텍스트란 유도체나 전분 등의 천연고분자, 또는 생체 적합성 합성 고분자 등으로 코팅하는 것이 필수적인데 코팅층의 종류에 따라 SPIO 조영제의 크기 및 표면성질이 달라지기도 하며 그 이용분야도 다르다. 생체적합성 코팅에 의해 만들어진 SPIO 조영제는 *in vivo* 시스템에 적용하였을 때 철 원소로 생분해 되는 특징이 있는데, 이는 다른 금속이나 무기물 나노입자가 진단 및 치료에 있어서 체내 분해가 안되어 독성을 유발할 수 있는 문제점이 있는 것을 미루어 보았을 때 큰 장점이 아닐 수 없다. 따라서 SPIO 조영제의 이러한 특성을 이용하여 epidoxorubicin 또는 mitoxantrone 등의 항암제와 물리적 결합하여 자기장을 이용한 약물전달 시스템(magnetic drug targeting)에 이용하고자 하는 연구가 이루어지고 있고 Nanomag®-D와 MagNaGel®105 같이 이미 임상에서 사용되고 있는 것도 있다.

2.3.2 SPIO 조영제의 분류

SPIO 조영제는 나노입자의 직경(중심부+코팅층)에 따라 3가지 종류로 분류할 수 있다(표 1). 경구용(Oral) SPIO는 직경이 300 nm~3.5 μm 의 범위를 나타내는 입자로 임상에서 위장 조영제로 이용되고 있는데, 이들은 표면이 분해되지 않거나 물에 녹지 않는 siloxane(AMI 121, Gastromark®) 또는 polystyrene(OMP, Abdoscan®)으로 코팅되어 있어 효소들로부터 나노입자를 보호하고 응집을 막아 균일하게 분산될 수 있도록 해주는 특징이 있다. Standard SPIO(SSPIO)로 불리우는 직경이 60~150 nm의 범위인 입자는 표면이 텍스트란(AMI-25, Feridex IV®) 또는 카복실 텍스트란(SHU 555A, Resovist®)으로 코팅되어 있다. 정맥주사시 빠르게 간이나 비장 등의 망상내피세포에 도달하는 특징을 이용하여 간암 조영제로 이용되고 있는데, 간 종양에는 Kupffer 세포가 거의 존재하지 않아 SPIO에 의해 정상 간의 신호만 어두워지면서 병변의 대조도가 증가하는 원리를 이용한다. AMI-25는 현재 임상에서 사용 중이며 SHU 555A는 임상 3상이 종료된 상태이다. Ultrasmall SPIO(USPIO)로 분류되는 직경이 10~40 nm인 나노입자는 Weissleder 그룹에 의해 처음 개발된 것으로 작은 크기와 증가된 체내 순환시간 때문에 림프절의 조영이 가능하여 암 전이 유무를 판단하는데 효과적이다. 현재 텍스트란으로 코팅된 Advanced Magnetix사의 AMI-227(Combindex®)이 임상 3상 중에 있다. USPIO의 한 부류인 MION(monocrystalline iron oxide nanoparticles)은 중심부가 단일 결정격자 구조로 이루어져 있는 SPIO 계열 중 크기가 가장 작은 나노입자로 크기는 10~30 nm의 범위이며 높은 자화율을 나타낸다. 이것은 MR 프로브를 이용한 세포의 표지 및 림프절 조영 등에 이용될 수 있는데 아직 실험단계이며 열적으로 경화된 텍스트란으로 코팅된 CLIO(cross-linked iron oxide)가 MION의 한 형태이다.

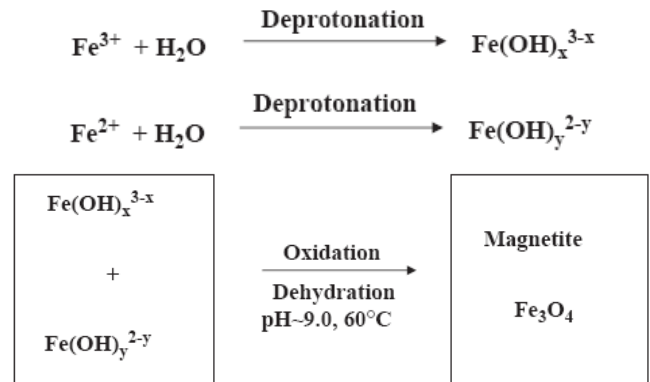


그림 5. 공침법에 의한 magnetite의 합성.⁵

2.3.3 생체적합성 SPIO 조영제의 개발⁶

2.3.3.1 합성방법

가) 공침법(Coprecipitation); SPIO 조영제의 중심부인 magnetite를 만드는데 가장 흔히 이용되는 방법으로 ferric(Fe^{3+})과 ferrous(Fe^{2+}) 염을 염기용액에서 공침하여 합성한다(그림 5). 이때 자성나노입자의 크기, 모양 및 조성은 사용한 염의 종류(예; chloride, sulfate, nitrate), $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 의 비율, 반응온도, pH 값, 용액의 이온세기 등의 영향을 받는다. 콜로이드 용액은 수용액 상에서 안정하지 못하고 산화되기 쉬우므로 합성 시 inert 환경을 조성하여 주는 것이 중요하며 나노입자의 단분산도, 안정성 및 생체적합성을 위하여 텍스트란, PEG 또는 poly(vinyl alcohol)(PVA) 등의 유기물 존재 하에서 공침하기도 하며 최근에는 oleic acid가 안정성을 증가시킬 수 있는 가장 좋은 물질임이 보고되기도 하였다.

나) 열분해법(Thermal decomposition); 철의 전구체(precursor)를 열분해함으로써 다양한 크기의 SPIO 나노입자를 얻는 방법이다. 뜨겁게 가열된 계면활성제를 포함한 유기용매에 유기금속화합물을 넣고 열분해하면서 핵 형성을 유도한다. 유기금속화합물의 전구체로서 metal acetylacetonates, metal cupferronates, carbonyls 등이 사용되며, 계면활성제로서 fatty acids, oleic acids, hexadecylamine 등이 사용된다. 유기금속화합물, 계면활성제, 유기용매, 반응온도 및 핵 형성시간에 따라 나노입자의 크기 및 모양이 달라진다.

다) 마이크로유화 방법(Microemulsion, oil-in-water or water-in-oil); 마이크로 유화액의 microdroplet(1~50 nm)이 마치 SPIO 나노입자를 합성할 수 있는 나노반응기(nano-reactor)처럼 사용되며 이 반응기를 통해 나노입자의 크기와 모양 조절이 가능하다. Oil-in-water 마이크로유화 방법은 수용액상에 ferrous 염과 계면활성제의 침전물을 분산시킨 후 methylamine과 같은 염기를 첨가

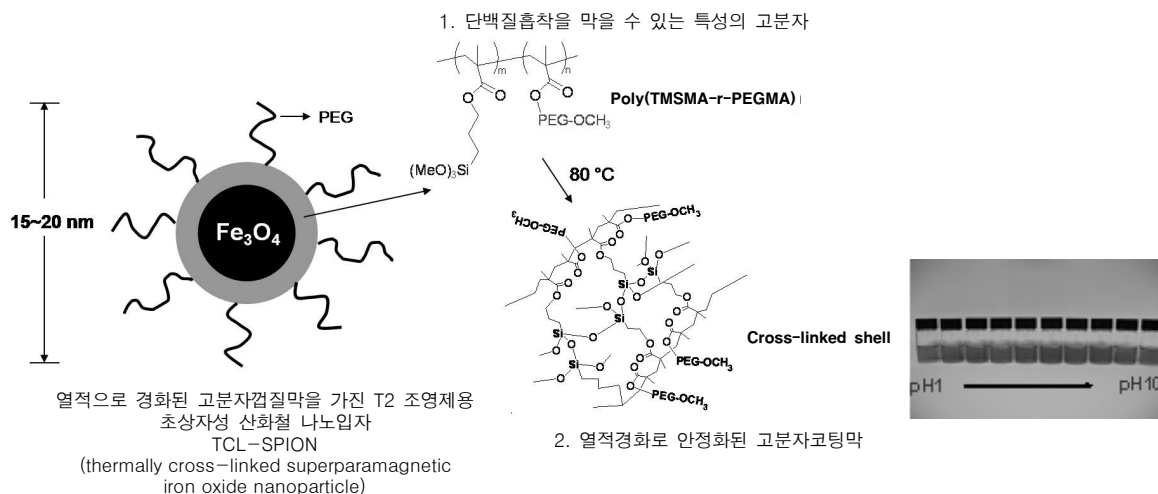


그림 6. 열적으로 경화된 고분자 겍질막을 가진 초상자성 산화철 나노입자의 모식도와 다양한 pH에서의 안정성 평가.⁷⁾

하여 SPIO 중심부를 합성한다. 또 다른 방법으로, Oleic acid가 코팅된 나노입자를 수용액상에 리피드가 분산되어 있는 용액에 첨가하면 리피드가 코팅된 자성 콜로이드 용액을 합성할 수 있다. 반면, water-in-oil 마이크로유화 방법은 철 염 용액 nanodroplet을 계면활성제를 사용하여 isooctane과 같은 유기용매에 분산시켜 reverse micelle을 형성시켜 나노입자를 만드는 방법이다. 금속의 농도, 염의 농도 및 반응온도 등을 조절하여 나노입자의 크기를 조절할 수 있으며 2~12 nm 정도로 비교적 균일하게 입자를 만들 수 있다.

라) 열수 합성법(Hydrothermal synthesis); 액체(liquid)-고체(solid)-용액(solution)의 계면에서 일어나는 상 분리를 이용하는 방법으로 금속 linoleate의 고체상과 에탄올 linoleic acid의 액체상, 물-에탄올 용액을 200 °C 이상의 고온 조건에서 반응하여 자성나노입자를 얻는 합성방법이다.

위에서 소개한 방법들 중 공침법은 가장 간편하게 합성할 수 있는 방법으로 선호되고 있고, 나노입자의 크기 및 모양 조절이 비교적 잘 되는 방법은 열분해법에 의한 합성이다. 마이크로유화 방법은 다양한 모양의 단분산 나노입자를 합성할 수 있으나 용매가 많이 필요하다는 단점이 있다. 열수 합성법은 균일한 나노입자를 얻을 수 있음에도 불구하고 아직 많은 연구가 진행되지 않았다. 결론적으로, 현재 연구되고 있는 합성법으로는 공침법과 열분해법이 가장 많으며 large scale로의 합성도 가능하다.

2.3.3.2 코팅방법

조영제와 같이 *in vivo* 시스템에 적용해야 할 경우 나노입자의 암 진단 효능을 증가시키기 위해 망상내피세포로 빠르게 제거되지 않도록 적절한 크기와 표면성질을 갖게 하는 생체적합성 코팅방법 개발의 중요성이 대두되면서 관련연구가 지속되고 있다. 크게 나노입자의 중심부를 코팅하는 방법은 두 가지로 나눌 수가 있는데 하나는 계면활성제나 고분자와 같은 유기물을 이용하여 코팅하는 방법과 다른 하나는 실리카 같은 무기물로 코팅하는 방법이다.

가) 계면활성제 또는 고분자 코팅: 계면활성제 및 고분자는 산화철 나노입자 표면에 화학적으로 고정 또는 물리적 결합하여 단일층(mono layer) 또는 이중층을 형성한다. 이들은 공간적인 반발작용(steric repulsion)을 일으켜 나노입자에 작용하는 인력과의 균형을 이루도록 해주어 나노입자가 용액에 균일한 상태로 분산될 수 있도록 해준다. 고

분자로 poly(pyrrole), poly(aniline), poly(alkylcyanoacrylates), poly(methylidene malonate), 그리고 poly(lactic acid), poly(glycolic acid), poly(ϵ -caprolactone)과 같은 polyester 등이 많이 이용되며 고분자 잔기에 carboxylic acids, phosphates, sulfates 등의 기능기를 포함하고 있는 것들은 산화철 나노입자 표면위로 물리적 결합이 가능하다. 계면활성제로는 citric, gluconic, oleic 등이 사용된다. 그러나 코팅층이 단일이거나 이중층인 것들은 산화반응에 완전히 안정하지 못하고, 염기나 산 조건에서 쉽게 벗겨져 버릴 수 있는데, 이러한 코팅층의 안정성 증가를 위한 연구가 요구되면서 텍스트란 유도체로 코팅된 조영제의 코팅층을 epichlorohydrin 등으로 경화(cross-linking)하여 개발한 CLIO가 현재 임상실험 중에 있다. 본 연구실에서는 그림 6과 같은 고분자 코팅층을 새롭게 개발하였다. 실리콘을 함유하는 3-(trimethoxysilyl) propyl methacrylate와 PEG를 함유하는 poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate를 이용하여 고분자를 합성한 후 실리콘 부분을 통하여 산화철 나노입자 표면에 공유결합에 의한 단단한 코팅층을 형성시킨다. 이것을 80 °C에서 열적으로 경화시켜 실리콘 사이의 가교결합(cross-linking)을 유도하면 Si-O-Si 결합층을 이루게 되어 고분자 코팅막이 더욱 안정하게 만들어지게 되는데, 이는 기존의 화학적 경화보다 간편한 방법이다. 이렇게 합성된 열적으로 경화된 고분자 겍질막을 가진 T2 조영제용 초상자성 산화철 나노입자(Thermally Cross-Linked SPION; TCL-SPION)는 다양한 pH 조건에서도 한 달 이상 안정성을 보였으며 고분자층의 PEG 효과로 단백질의 흡착 또한 현저히 줄일 수 있는 가능성을 갖게 된다.

나) 실리카 코팅: 실리카 코팅방법은 나노입자에 안정성을 주고 표면 개질이 쉽도록 해준다. 산화철 표면은 실리카에 대하여 큰 affinity를 가지므로 코팅이 가능하며 코팅층의 두께는 ammonium의 농도 및 tetraethoxysilane(TEOS)과 물의 비율을 통해 조절이 가능하다. 그러나 실리카는 염기성 용액에 불안정하고 작은 구멍들을 갖고 있어 이 부분을 통하여 산소나 다른 물질들이 침투할 수 있으므로 완전히 안정하지 못하다는 한계를 갖고 있다. 표 2는 자성나노입자 코팅에 사용되는 대표적인 물질과 각각의 장점을 정리한 것이다.

다) 매트릭스로의 분산을 이용한 코팅(Matrix-dispersed magnetic nanoparticles); 자성나노입자는 보다 큰 나노입자의 코팅층에

분산되어 안정화될 수 있다. T. Hyeon 그룹에서는 다기능성 자성-금 하이브리드 나노입자를 개발하였다. 100 nm 정도의 실리카 입자를 3-aminopropyltrimethoxysilane으로 개질한 후, 7 nm 크기의 2-bromo-2-methyl-propionic acid로 안정화된 Fe_3O_4 를 실리카 표면의 아민그룹과 공유결합시킨다. 다음으로 1~3 nm의 금 나노입

표 2. 자성나노입자 코팅에 사용되는 물질⁴

Coating material	Advantages
Citric, gluconic, oleic	Larger SPIO core with thin organophilic coating
Dextran	Long plasma half-life, modifications
Polycarboxymethyl dextran	Long plasma half-life, reduced diameter
Polyvinyl alcohol	Longer plasma half-life
Starches	Wide pH stability, biocompatibility, availability, modifications
PMMA	Magnetic drug delivery vehicle
PLGA	FDA approved biocompatible coating
PAM	Multiple particle enmeshing matrix
PEG	Long plasma half-life, chemical modifications
PEG-lipid	Thin coating, available bioconjugation
Silane	Reactive to alcohol and silane coupling agents
Silica	Inert, biocompatible coating

자를 남아있는 아민그룹에 결합시키고 이것을 seed로 하여 금 껍질을 성장시키면 자성-금 하이브리드 나노입자를 합성할 수 있다(그림 7). 이것은 MRI 조영 뿐 아니라 금을 이용한 NIR 영역의 조사를 통하여 암 치료도 가능하므로 다기능성 암 진단 및 치료에 이용될 수 있음을 제시하고 있다.

한편, Ying 그룹에서는 또 다른 코팅방법으로써 실리카로 자성 나노입자 및 양자점(quantum dot)을 함께 encapsulation하여 MRI 및 형광 영상이 모두 가능한 다기능성 나노입자를 개발하기도 하였다.

2.4 표적지향형 SPIO의 개발

표적지향 리간드가 접합된 SPIO를 이용하면 능동적 표적지향 방법에 의해 보다 정확하고 빠르게 특정 조직만을 진단할 수 있다. 현재까지 연구에 이용되어온 표적지향 리간드로는 암세포 또는 신생 혈관에 과발현하는 수용체와 결합할 수 있는 펩타이드, 단백질, 암 특이적 항체, 그밖에 작은 분자들로서 transferrin, herceptin, cRGD, folate, underglycosylated MUC-1(uMUC-1) antibody, Lu-teinizing Hormone-Releasing Hormone (LHRH) 유도체 등이 있다. 이들을 나노입자 코팅층 표면에 결합시키기 위해 amide나 ester 결합을 이용하는데 이때 사용되는 링커(linker)로는 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodi-imide hydrochloride (EDCI),

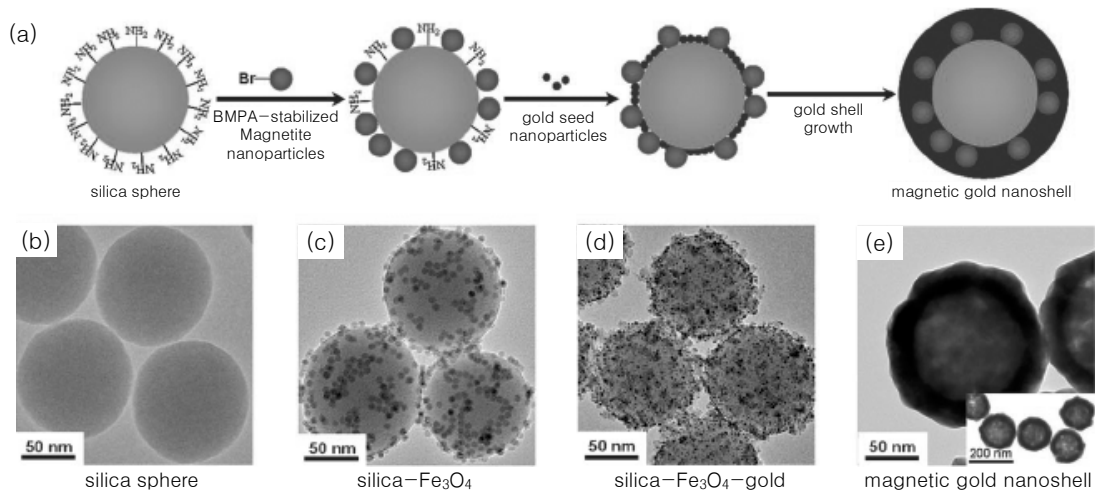


그림 7. 자성-금 하이브리드 나노입자 합성의 모식도 및 TEM 이미지.⁸

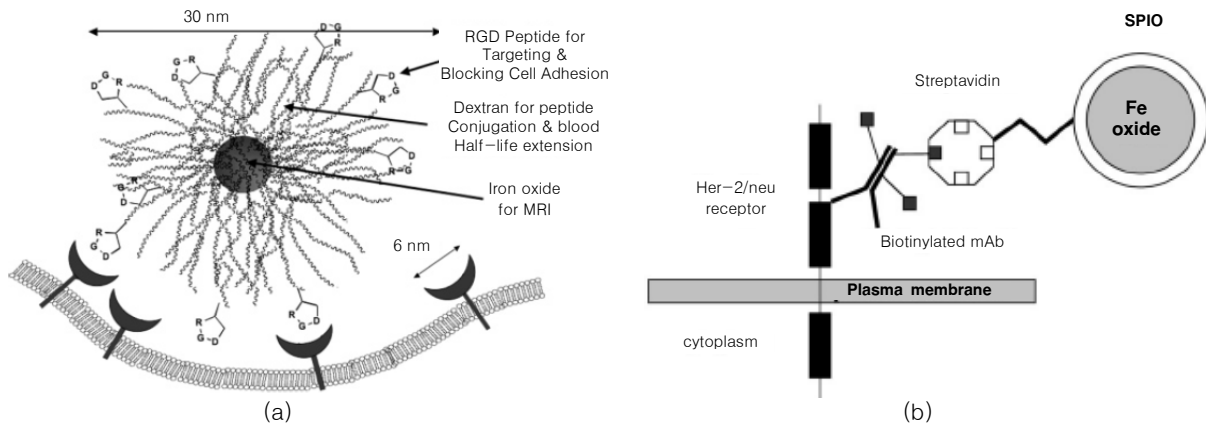


그림 8. (a) α/β 인테그린을 표적지향하는 cRGD-CLIO 나노입자의 모식도, (b) 스트렙타비딘-바이오틴 링커를 이용하여 SPIO로 Her-2/neu 수용체를 표지하는 방법.^{9,10}

N-succinimidyl 3-(2-pyridyldithio) propionate(SPDP), N-hydroxysuccinimide 또는 N, N' methylene bis acrylamide(MBA) 등이 있다. **그림 8(a)**는 CLIO에 cRGD 펩타이드를 컨쥬게이션하여 신생혈관 표지자인 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린을 영상화하려는 모식도이다. 또 다른 방법으로, 표적지향 리간드를 먼저 체내로 전달하고 나노입자를 그 후에 전달하는 방법이 있다. **그림 8(b)**와 같이 바이오틴(biotin)과 스트렙아비딘(streptavidin) 결합을 이용하는 방법이 많이 이용되고 있는데, 전이성 유방암의 25%에서 과발현되는 Her-2/neu 수용체를 표적지향하기 위하여 바이오틴화 허셉틴(biotinylated Herceptin) 단일 항체를 정맥주사하여 먼저 수용체와 결합시킨 후 스트렙아비딘(streptavidin)이 결합된 SPIO를 정맥주사하여 전달하면 바이오틴-스트렙아비딘의 강한 결합에 의해 SPIO가 유방암에 선택적으로 전달되어 영상화가 가능하다.

그림 9는 실제 표적지향형 리간드가 결합된 SPIO 조영제를 *in vivo* 시스템에 적용하여 진단능 향상을 보고한 연구이다. Water-soluble iron oxide nanoparticles(WSIO)에 허셉틴이 결합된 표적지향형 SPIO 조영제를 암이 형성된 생쥐모델에 정맥주사 하였다니 5분 안에 MR 영상에서 컨트롤 대비 20% T2 신호 감소를 보였다. 이밖에

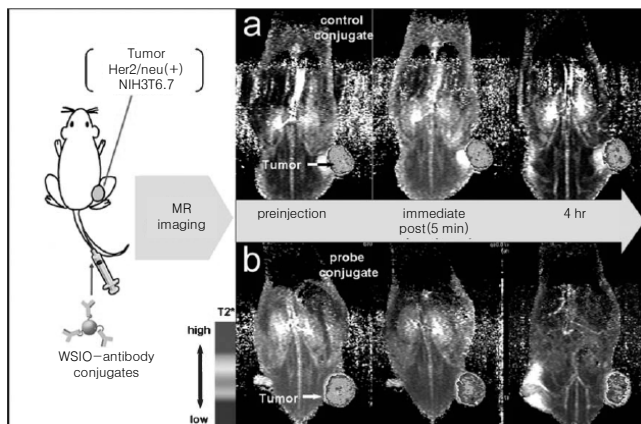


그림 9. WSIO-허셉틴 컨쥬게이트의 정맥주사 후 시간에 따른 MR 이미지. (a) 허셉틴이 없는 WSIO (컨트롤), (b) WSIO-허셉틴.^{11,12}

도 aptamer나 affibody 등을 나노입자에 접합하여 진단능을 향상시키고자 하는 연구가 이루어지고 있다.

2.5 약물동력학 및 생체 편재율

일반적으로 작은 크기의 자성나노입자는 주로 신장 분비(renal excretion)에 의해 소변으로 배출되고 큰 크기의 입자는 간(Kupffer cell)이나 비장 또는 골수의 대식세포에 의해 제거되는데 Kupffer cell의 리조좀 소포(lysosomal vesicle)에 있다가 담즙산과 합쳐져 배설물로 배출되기도 한다. 그렇지 않으면 자성나노입자의 생분해성 특성으로 분해산물이 pinocytosis에 의해 세포내로 유입되어 철 분자가 재활용되기도 한다. 자성나노입자의 크기별 혈액 내 순환시간을 나타낸 그래프에 따르면 40 nm 이상의 SPIO는 간이나 비장에서 제거되며 특히 200 nm 이상 되는 입자는 주로 비장으로 전달된다(**그림 10**). 반면, 5~20 nm의 USPIO 입자나 10 nm 이하의 MION은 체내 순환시간에 대한 반감기가 약 2시간 정도로 림프절에 있는 망상내피세포로 유입된다. 일반적으로 큰 나노입자일수록 혈장에서의 반감기가 짧다.

망상내피세포에 의해 제거된 대부분의 자성나노입자는 분해되어 철 원자는 ferritin이나 transferrin 등으로 재활용되는 반면 코팅층은 좀 더 오랜 시간동안 세포내에 존재하는데 텍스트란으로 코팅된 SPIO의 경우 세포내 dextranase에 의해 텍스트란이 분해되어 소변으로 배출되는데 약 56일 정도의 시간이 걸린다고 보고되었으며 그 밖에 다른 고분자 코팅층의 경우 분해시간 및 독성이 고려되어야 한다.¹³

2.6 암 진단의 예

SPIO 나노입자는 크기에 따라 암 진단 부위가 다르다. 앞서 2.3.2 절에서 설명하였듯이 SSPIO는 주로 간암 조영제 또는 혈관 조영제로 사용되고 있고, USPIO는 림프절 조영을 통해 전이성 암을 진단하고자 하는 연구가 진행 중이다. 암이 림프절로 전이되었을 경우 림프절의 망상내피세포가 파괴되어 존재하지 않게 되는데 이를 통해 정상 림프절과 전이 림프절의 구별이 가능하다. **그림 11**에서와 같이 정상 림프절의 경우 조영제의 주입전과 후가 MR 영상의 T2신호 감소에 의해 확연히 차이가 나지만 전이성 림프절의 경우 조영제의 주입전과 후의 차이가 거의 없다.

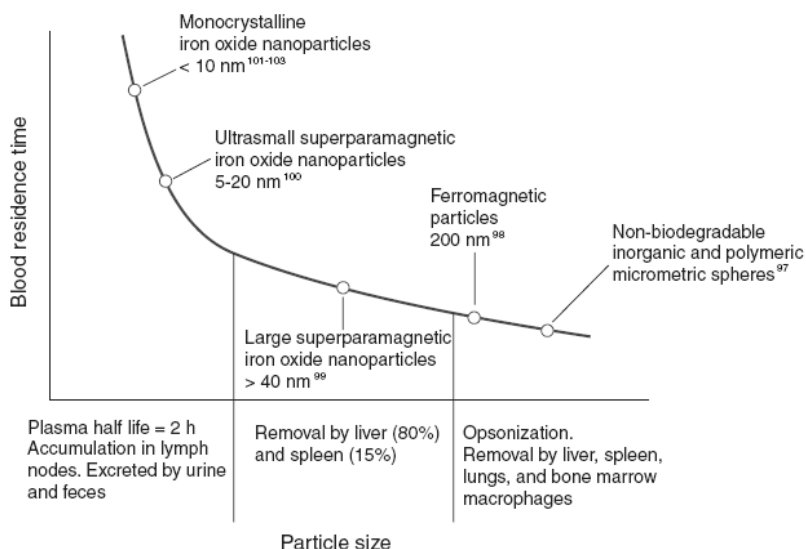


그림 10. SPIO 나노입자크기에 따른 혈류에서의 체류시간.³

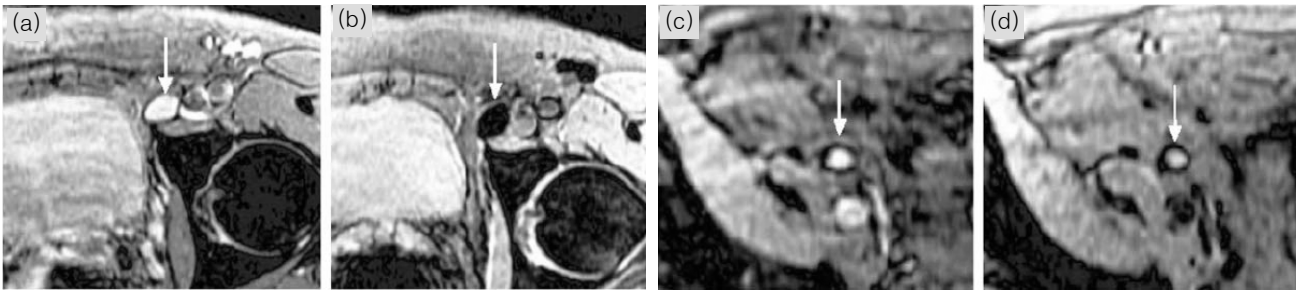


그림 11. SPIO를 이용한 (a),(b) 정상 림프절 및 (c),(d) 전이성 림프절의 MR 영상화. (a),(c) pre-injection, (b),(d) post-injection.^{4,14}

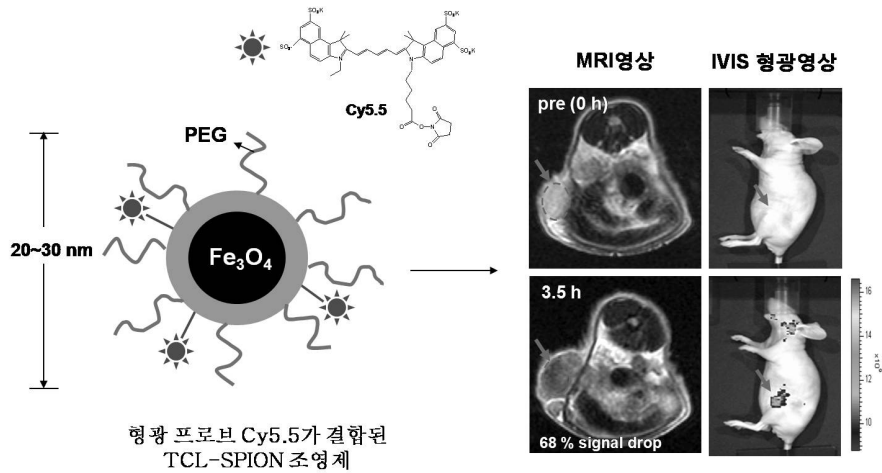


그림 12. 형광프로브 Cy5.5가 결합된 TCL-SPIO 조영제의 모식도와 MRI 및 형광 영상결과.¹⁵

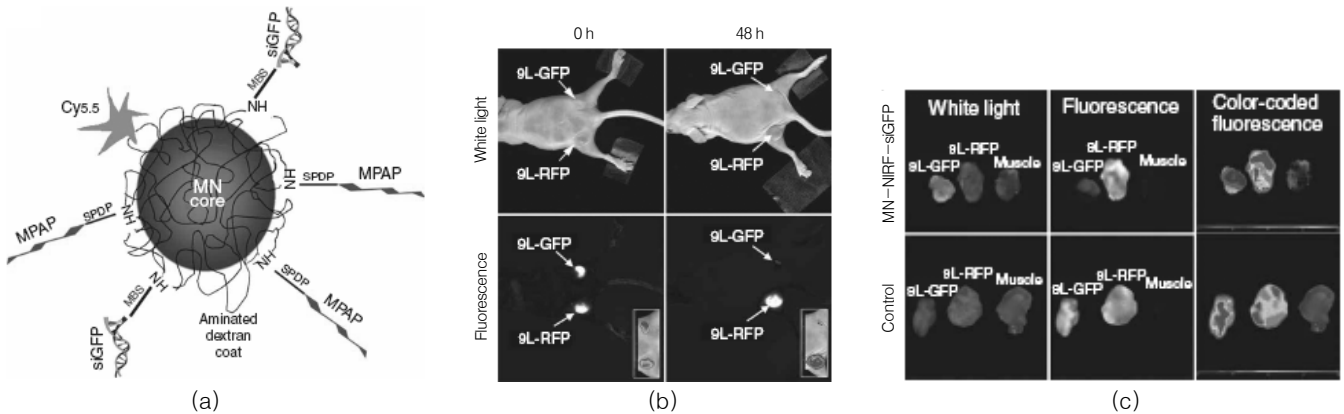


그림 13. (a) 자성나노입자-siRNA-Cy5.5 컨쥬게이트의 모식도, (b) *in vivo* 동물 모델에서 암 진단 및 GFP의 유전자 침묵 효과, (c) 암 조직을 적출하여 촬영한 사진.¹⁶

한편, 본 연구실에서는 나노입자의 크기가 20 nm 이내인 근접적 외신 형광염료 Cy5.5가 결합된 TCL-SPIO를 개발하여 MR 영상 및 형광영상의 이중진단이 가능하도록 하였다(그림 12). EPR 효과에 의해 나노입자가 암 조직으로 축적되는 원리를 이용하여 동물실험 수행 결과 Cy5.5-TCL-SPIO의 정맥 주사 후 1시간 내에 조영제가 암에 축적되는 것을 MR 영상을 통해 확인하였고, 3시간 30분 후에는 T2 신호강도가 약 68%까지 감소하는 결과를 통해 효과적인 암 진단의 가능성을 확인하였다. 한편으로, 같은 시기에 TCL-SPIO에 결합되어있는 Cy5.5에 의한 *in vivo* 형광 영상을 통해 성공적으로 암을 진단할 수 있었다. 이는 특정 암에만 특이적인 기존 조영제

와는 달리 범용형 암 진단 조영제로 응용될 것으로 기대된다.

현재 연구방향으로는 자성나노입자에 추가적으로 형광 프로브를 결합하여 다중 진단이 가능하도록 하여 MR 영상의 해상도와 형광 영상의 민감도를 동시에 얻을 수 있는 조영제를 개발하는 것 또는, 항암제와 같은 약물을 나노입자에 물리적, 화학적으로 결합시켜 동시에 암 진단 및 치료를 하고자 하는 연구들이 진행 중이다. 대표적인 예로 Anna Moore 그룹에서 발표한 siRNA와 Cy5.5가 결합된 자성나노입자를 들 수 있다(그림 13). 이것은 siRNA의 유전자 침묵(gene silencing) 효과를 이용한 암 치료와 형광 프로브를 통한 다중 암 진단을 동시에 수행할 수 있는 기능을 가졌는데 동물실험을 통해 자성

나노입자가 전달된 암은 GFP 유전자가 발현되지 않는 결과를 나타내는 반면, RFP 유전자는 잘 발현되는 결과를 보고하였다. 본 연구실에서도 이와 같은 암 진단 및 치료 수행능을 갖춘 자성나노입자를 개발중이며 TCL-SPION에 항암제를 적재(선적)함으로써 효과적으로 암에 약물을 전달하여 암 치료 효율을 크게 높임을 발견하였다. 이 기술은 암의 조기발견보다는 환자 및 의사가 암이 치료되어 가는 과정을 직접 보고 모니터링할 수 있는 측면에서 아주 유용할 것으로 전망한다.

3. 결론

나노기술과 의학이 접목된 나노의약품 분야에서 현재 많은 연구자들이 공동연구를 통해 시너지효과를 내면서 획기적인 기술들을 개발하고 있어 멀지 않아 차세대 의약품으로서 나노의약품의 결과물들이 시장에 나올 것으로 전망한다. 특히 SPIO 조영제는 현재 활발히 연구되고 있는 진단용 나노의약품의 예로 암의 조기진단 및 그동안 어려웠던 부위의 진단능을 향상시킬 수 있는 잠재력이 크다. 또한 현재의 연구동향에 발맞추어 민감도가 높은 진단 방법을 SPIO 조영제에 추가적으로 접목함으로써 보다 정확하고 선명한 진단이 가능하도록 하는 연구나, 진단과 치료를 동시에 수행하며 치료 효과까지도 바로 평가할 수 있는 형태의 조영제 개발이 활발할 것으로 보인다. 뿐만 아니라 현재 나노입자의 위험성이 아직도 정확히 밝혀지지 않은 상태이지만 철 원소를 사용하는 SPIO 조영제는 약물전달체로 이용할 경우 그 장점이 더욱 부각될 것으로 사료된다. 본 연구팀도 의과대학 교수님들과 긴밀한 공동연구를 통해 최적의 암 진단 및 치료용 나노입자 시스템을 개발해 나가고 있다.

참고문헌

1. D. Peer, J. M. Karp, S. Hong, O. C. Farokhzad, R. Margalit, and R. Langer, *Nature*, **2**, 751 (2007).
2. Y. X. Wang, S. M. Hussain, and G. P. Krestin, *Eur. Radiol.*, **11**, 2319 (2001).
3. M. Arruebo, R. Fernández-Pacheco, M. R. Ibarra, and J. Santamaría, *Nanotoday*, **2**, 22 (2007).
4. D. L. Thorek, A. K. Chen, J. Czupryna, and A. Tsourkas, *Ann. Biomed. Eng.*, **34**, 23 (2006).
5. A. K. Gupta and M. Gupta, *Biomaterials*, **26**, 3995 (2005).
6. A. H. Lu, E. L. Salabas, and F. Schüth, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, 1222 (2007).
7. H. Lee, E. Lee, D. K. Kim, N. K. Jang, Y. Y. Jeong, and S. Jon, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 7383 (2006).
8. J. Kim, S. Park, J. E. Lee, S. M. Jin, J. H. Lee, I. S. Lee, I. Yang, J. S. Kim, S. K. Kim, M. H. Cho, and T. Hyeon, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 7754 (2006).
9. D. Artemov, N. Mori, B. Okolli, and Z. M. Bhujwalla, *Magn. Reson. Med.*, **49**, 403 (2003).
10. X. Montet, M. Funovics, K. Montet-Abou, R. Weissleder, and L. Josephson, *J. Med. Chem.*, **49**, 6087 (2006).
11. Y. W. Jun, J. S. Choi, and J. Cheon, *Chem. Commun.*, 1203 (2007).
12. Y. M. Huh, Y. W. Jun, H. T. Song, S. Kim, J. S. Choi, J. H. Lee, S. Yoon, K. S. Kim, J. S. Shin, J. S. Suh, and J. Cheon, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 12387 (2005).
13. C. Corot, P. Robert, J. M. Idée, and M. Port, *Adv. Drug. Deliver. Rev.*, **58**, 1471 (2006).
14. M. G. Harisinghani, J. Barentsz, P. F. Hahn, W. M. Deserno, S. Tabatabaei, van de C. H. Kaa, de la J. Rosette, and R. Weissleder, *N. Engl. Med.*, **348**, 2491 (2003).
15. H. Lee, M. K. Yu, S. Park, S. Moon, J. J. Min, Y. Y. Jeong, H. W. Kang, and S. Jon, *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 12739 (2007).
16. Z. Medarova, W. Pham, C. Farrar, V. Petkova, and A. Moore, *Nat. Med.*, **13**, 372 (2007).