

자궁경부암세포 치료를 위한 발광다이오드의 응용

박철우¹, 박기태¹, 최호종¹, 최세운¹

¹금오공과대학교 메디컬IT융합공학과

A potential anticancer therapeutic strategy using light-emitting diode

Chul Woo Park¹, Kitae Park¹, Hojong Choi¹, Se-woon Choe¹

¹Department of Medical IT Convergence Engineering, Kumoh National Institute of Technology

E-mail : sewoon@kumoh.ac.kr

요 약

발광 다이오드는 임상용으로 사용되는 레이저에 비해서 발생하는 열이 적고, 일반 건강한 세포에 무해하며, 비침습적인 특성으로 높은 안전성을 가지고 있으며 현재 많은 연구가 진행되고 있다. 따라서 본 논문에서는 복수의 파장대역을 갖는 발광 다이오드를 이용하여 사람의 자궁경부암 조직의 증식억제 주파수효과를 확인하였다. 준비된 자궁경부암 세포를 다양한 파장대의 발광 다이오드에 일정한 시간동안 조사한 후 세포의 활성도를 측정하였고, 그 결과 비교적 파장이 긴 빨강과 초록색의 노출보다 파장이 짧은 파란색 빛이 자궁경부암 세포의 증식억제 효과가 있음을 확인하였다.

ABSTRACT

Clinically applicable light emitting diode (LED) has been widely investigated because of relatively low heat generation, low cytotoxicity, and non-invasiveness compared to other therapeutic methods. Therefore, we investigated the therapeutic effects of several wavelengths of light emitting diode against human cervical cancer cells and analyzed the individual inhibitory effect for the cancer cell proliferation. In the experiment, prepared HeLa cells were exposed by red, green and blue light-emitting diode for 10 minutes each. Relatively short-wavelength light-emitting diode (blue) showed stronger therapeutic effects than relatively long-wavelength light-emitting diodes.

키워드

암치료, 발광다이오드, 자궁경부암, 증식억제

I. 서 론

레이저 등을 사용하는 의광학 기기와 초음파 등은 항암 치료뿐만 아니라 재생의학 등 인체세포와 대체장기 등을 활용한 연구에 활발하게 사용되고 있다 [1]. 의학용으로 사용되는 광학용 장비는 피부질환, 암, 신경시스템 또는 퇴행성 질환 등 다양한 질병치료에 사용되고 있으며, 그중 레이저를 활용한 광역학적 치료법은 인체해 무해한 적외선대역의 파장을 사용함으로써 높은 안정성과 치료효과를 보인다. 하지만, 과도한 치료시간에 기인한 발열현상은 국소부위의 정상세포에 치명적인 피해를 입히기도 한다 [2]. 따라서 최근 정상세포에 무해하며 상대적으로 사용비용이 저렴한 발광다이오드 (LED; light-emitting diode)가 많은 관심을 받고 있다 [3]. 하지만 상용화된 LED의 경우 발산하는 광학적 특성 때문

에 특별히 디자인된 가이드가 필요하다. 본 연구에서는 복수의 다양한 파장대의 LED를 자궁경부암세포 (HeLa cell) 에 조사하고 파장대별 세포활성도를 정량적으로 분석하여 LED를 이용한 항암치료효과를 확인하고자 한다.

II. 연구방법

2.1 자궁경부암세포의 증식

자궁경부암세포 (한국 세포주 은행, 서울)은 고농도의 글루코스가 포함된 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)과 10 %의 FBS (Fetal Bovine Serum),

1 %의 Penicillin Streptomycin로 구성된 배지용액과 37° C와 5 %의 이산화탄소 환경의 배양기에서 증식시켰다. 세포는 배양접시의 약 80 %가 채워졌을 때, 실험을 위한 샘플로 사용이 되며 PBS (Phosphate-buffered saline) 을 이용하여 배지용액을 제거한다. 샘플로 준비된 세포가 페트리디쉬 내에서 약 40 %의 증식률을 보일 때 LED를 조사하여 세포활성도를 매일 측정했다.

2.2 LED 조사실험

본 실험에서는 900루멘 이상의 고전력 LED (CBT-120 series, Luminus Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하며, 24W 전력 (12V, 2A)으로 구동되는 LED 드라이버 (DK-136M-3, Luminus Devices, Sunnyvale, CA, USA)에 의해 제어되었다. 적, 청, 녹색의 3가지 파장대역 (622, 535와 462nm)의 LED를 사용하고, 레이저와는 다른 발산하는 특성을 제어하기 위해 3D 프린터로 제작된 가이드언스를 부착하여 표적세포에 조사하였다. 이 가이드언스는 LED와 세포가 증식되고 있는 페트리디쉬 사이에 위치하여, 적, 청, 녹색의 LED는 가이드언스를 통해 페트리디쉬의 하부에서 상부 방향으로 조사하도록 했고, LED는 30분동안 하루에 1회, 3일 동안 연속적으로 자궁경부암 세포에 조사하여 실험을 진행하였다.

2.3 세포활성도의 정량적 분석

현미경으로 촬영된 이미지들은 MATLAB (MathWorks, Natick, MA, USA) 프로그램을 활용하여 세포의 면적과 세포돌래의 길이를 정량적으로 측정하고, 이러한 방법으로 획득된 값들은 페트리디쉬의 전체 면적에서 차지하는 면적을 %로 변환하여 세포활성도 값으로 변환되었다. 이 결과 값은 ANOVA (Analysis of Variance) 와 Scheffe' s post hoc을 이용하여 통계분석을 진행하였고, 만약 P 값이 0.05 이하일 경우에 통계적으로 유의미한 변화를 갖는다고 고려되었다.

III. 실험 및 결과 분석

자궁경부암 세포 (n=5) 는 서로 다른 파장대의 적, 녹, 청 LED를 각각 30분간 연속된 3일 동안 조사하여 고해상도 역립 현미경을 사용하여 획득되었다. Day0의 경우, LED로 조사하기 직전의 세포활성도 측정값이 %로 계산되어 표 1과 같이 요약되었다. 그 결과, 462 nm의 파장을 갖는 청색의 LED가 조사된 자궁경부암 세포의 샘플에서 control 그룹과 비교하여 8배 이상의 감소율을 보였고, 통계적으로 유의미한 결과 ($P < 0.05$) 값을 보였다. 녹색의 LED가 조사된 세포활성도는 control 그룹과 비교하여 2.5배 정도의 감소율을 보였으며 역시 통계적으로 유의미한 결과 ($P < 0.05$) 값을 보였으나, 적색 파장의 경우 control 그룹과 세포활성도는 큰 차이를 보이지 않았으며 통계학적 차이도 역시 확인할 수 없었다. 이 결과로, 임상에서 자궁경부암 세포의 활성도를 줄이거나 치료효과를 볼 수 있는 LED의 파장영역은 주로 녹색 또는 청색의 파장대이며, 파장대별 효과는 표1에서

확인할 수 있다.

표 1. 파장별 세포활성도 변화

	Day0	Day1	Day2	Day3
Control	18.2±1.3	31.1±2.9	56.0±6.0	81.7±5.2
622 nm	16.4±3.1	26.0±4.9	57.4±12.0	81.7±9.9
535 nm	17.0±2.5	28.0±3.4	45.1±3.5	61.8±4.1
462 nm	16.9±1.5	13.0±2.5	10.9±2.6	11.2±2.5

IV. 결론

본 논문에서는 레이저를 활용한 광역학적 치료법에서 발생할 수 있는 문제점을 보완하기 위해, 레이저 대신 LED를 활용한 방법과 그 결과를 정량적인 분석을 통해 제시하였다. 일반적으로 레이저를 광역학적 치료에서 사용할 경우 국소부위에 발열현상이 발생할 수 있으며, 이는 일반세포 또는 조직에 부정적인 영향을 미칠 수 있다. LED를 사용할 경우 기존의 치료법에서 발생할 수 있는 부작용 억제효과가 있을 것이며, 상대적으로 용이한 사용법과 낮은 발열현상 및 높은 휴대성으로 진단의료기기로의 확대응용도가 높을 것으로 판단된다. 또한, 초음파, 자기공명영상과 생화학적 치료법 등과 복합된 통합치료활용도가 높을 것으로 기대하며, 향후 특정 주파수의 초음파 프로브를 사용한 복합 치료에 대한 연구가 필요할 것이다.

참고문헌

- [1] Y. B. Hochman, C. E. Pinfieldi, M. A. Nishioka, F. Furtado, S. Bonatti, P. K. Monteiro, A. S. Antunes, P. R. Quieregatto, R. E. Liebano, and G. Chadi, Low-level laser therapy and light-emitting diode effects in the secretion of neuropeptides SP and CGRP in rat skin, *Lasers in medical science*. 29, 3, 1203-1208, 2014
- [2] H. T. Whelan, R. L. Smits Jr, E. V. Buchman, N. T. Whelan, S. G. Turner, D. A. Margolis, V. Cevenini, H. Stinson, R. Ignatius, and T. Martin, Effect of NASA light-emitting diode irradiation on wound healing, *Journal of clinical laser medicine & surgery*. 19, 6, 305-314, 2001
- [3] H. T. Whelan, R. L. Smits Jr, E. V. Buchman, N. T. Whelan, S. G. Turner, D. A. Margolis, V. Cevenini, H. Stinson, R. Ignatius, and T. Martin, Effect of NASA light-emitting diode irradiation on wound healing, *Journal of clinical laser medicine & surgery*. 19, 6, 305-314, 2001