

## 5-Aminolevulinic acid의 국소적 투여에 의한 자궁경부암의 광역학치료에 대한 연구

단국대학교 의과대학 산부인과학교실<sup>1</sup>, 단국대학교 의학레이저연구센터<sup>2</sup>

윤문희<sup>1</sup> · 조현철<sup>1</sup> · 안진철<sup>2</sup> · 박충학<sup>1</sup> · 박진완<sup>1</sup>

### Photodynamic therapy using topically applied 5-aminolevulinic acid for treatment of cervical cancer

Moon-Hee Youn, M.D.<sup>1</sup>, Hyun-Chul Cho, M.D.<sup>1</sup>, Jin-Chul Ahn, Ph.D.<sup>2</sup>, Choong-Hak Park, M.D.<sup>1</sup>,  
Jin-Wan Park, M.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Dankook University College of Medicine,

<sup>2</sup>Medical Laser Research Center, Dankook University, Cheonan, Korea

**Objective:** The purpose of this study was to investigate the treatment effects of a topical application of 5-aminolevulinic acid (5-ALA) for photodynamic therapy (PDT) to treat cervical cancer.

**Methods:** We first investigated the effects of 5-ALA cream according to application time. And to find the effective 5-ALA concentration and the distribution times in vivo, 20% 5-ALA cream was topically applied to the tumor of the nude mouse. We then observed the distribution of 5-ALA via fluorescence measurement with using a 532 nm diode laser. 25 nude mice were divided into Control, ALA, Laser, and PDT group. To evaluate the PDT effect at cancer lesion, we applied 20% 5-ALA cream to the tumor by the same method, and the PDT was done by using a 632 nm diode laser at the time of the peak level of fluorescence. We checked the changes of the volume of cancer for 30 days, and then biopsy was done.

**Results:** The effective post-irradiation time after topical ALA application was 9 hours. In the PDT group, 40% (4/10) of the mice showed decreased tumor size.

**Conclusion:** The maximum PpIX fluorescence at 9 hours after local application of 5-ALA cream was checked. And PDT group did not show any statistical difference than control group in the growth of tumor size than control group. However responding cases (4/10) of PDT group showed the meaningful decrease of tumor size than control group ( $P<0.05$ ).

**Key Words:** Photodynamic therapy, 5-Aminolevulinic acid, Cervical cancer

광역학치료(photodynamic therapy, PDT)는 종양에 광감작제(photosensitizer)를 투여한 후, 광감작제가 활성화되는 특정파장의 빛을 조사하여 종양조직을 특이적으로 파괴시키는 치료방법으로,<sup>1</sup> 우리나라에서는 2003년 처음으

로 자궁경부암 환자를 대상으로 광역학치료를 시행한 증례 보고가 있었다.<sup>2</sup> 투여된 광감작제에 흡수된 빛 에너지는 형광으로 방출되거나, 산소로 전이되어 세포에 손상을 일으키는 단관체 산소(singlet oxygen) 및 자유 라디칼(free radical) 등을 생성하여 암세포에 손상을 일으켜 종양세포에 치료효과를 나타낸다.<sup>1,3</sup>

1904년 von Tapeiner는 광과민 반응에 산소가 필요함을 알고 처음으로 광역동작용(photodynamic action)이라는 용어를 사용하였으며, 실질적인 광역학치료의 역사는

접 수 일 : 2008. 2. 19.  
수 정 일 : 2010. 10. 30.  
채 택 일 : 2010. 11. 23.  
교신저자 : 박진완  
E-mail : parkdkog@dankook.ac.kr

1987년 독일 뮌헨의 의과대학생인 Oscar Raab가 acridine red에 착색된 짚신벌레(paramecium)가 일광하에 죽는 것을 처음 발견하면서부터이다.<sup>4-6</sup> 성공적인 광역학치료를 위해서는 효과적인 광감작제, 적절한 파장의 광원(light source)이 필요한데, 현재 많이 사용하는 광감작제로는 hematophorphyrin 유도체(HpD)를 근간으로 하는 Photofrin<sup>®</sup>과 Photogem<sup>®</sup>이 실제 임상에서 쓰이고 있다. 그러나 HpD는 체내에서 배설되는 시간이 길어 광역학치료 시 전신투여하면 광감작제가 체내에서 완전히 대사되어 사라질 때까지 환자는 완전히 차광해야하는 불편함과 전신투여로 인한 부작용을 감수해야만 한다.<sup>7,8</sup> 따라서 광감작제의 국소적인 투여는 종양 부위에 선택적인 침착이 가능하기 때문에 전신투여로 인한 부작용과 차광으로 인한 환자의 불편함을 없앨 수 있다는 장점이 있다.<sup>8</sup>

5-aminolevulinic acid (5-ALA)는 국소도포한 후 632 nm laser를 조사하는 국소 광역학치료를 광감작제로 사용되고 있으며, 부인과 영역(자궁경부, 질, 회음부)에서 발생하는 종양은 레이저 빛을 조사하기 쉬운 위치이기 때문에 5-ALA를 이용한 국소적 광역학치료는 매우 효과적인 치료 방법으로 사용될 수 있을 것이다.<sup>7,9</sup> 따라서 본 연구에서는 자궁경부암 세포를 이종이식한 nude mouse에 5-ALA를 국소 도포한 후 protoporphyrin (PpIX)이 축적되는 시간 및 레이저 조사 방법에 따른 치료 효과를 관찰하고자 하였다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 광감작제 및 레이저

광감작제는 미국의 Sigma사의 5-ALA를 oil-in-water emulsion상태로 용해하여 20% 5-ALA cream을 만들어 사용하였으며, 레이저는 새로운 광감작제가 최대 흡수 스펙트럼을 보이는 632 nm diode laser (BioLitec, Ceralas, Germany)를 사용하였다.

### 2. 세포 배양

세포주는 인체의 자궁경부 선세포암주(adenocarcinoma of cervix)인 Hela 세포주를 사용하였으며, Hela 세포주는 HPV가 감염된 자궁경부암세포이다. Hela 세포주를 세포

배양 플라스크에서 Dulbecco's modified Eagle's medium (Hyclone, Logan, UT, USA) 배양액 500 mL에 우태혈청 (Hyclone) 50 mL와 antibiotic-antimycotics (Gibco, Carlsbad, CA, USA) 5.5 mL를 섞은 세포배양액을 사용하였고 37℃의 온도가 유지되는 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다. 0.25% Trypsin-EDTA (Gibco)를 이용하여 계대 배양하였다.

### 3. 실험동물 및 사육 조건

6주령의 암컷 nude mouse (BALB/C/nu)를 온도가 22~23℃, 습도가 40~60%로 유지되는 항온-항습기에서 멸균 소독된 물과 방사능으로 조사한 멸균된 사료로 급수, 급식하면서 사육하였다. 무균적으로 3~4일에 한 번씩 멸균된 깔짚으로 교환하였으며, 3~4일에 한 번씩 hibitan 용액으로 복도와 무균실내를 청소하였고, 손은 70% 에탄올로 소독하고 소독된 일회용 장갑을 착용하여 세균에 감염되지 않도록 사육하였다.

### 4. 이종이식된 종양의 광역학치료

#### 1) 세포주의 이종이식

37℃가 유지되는 5% CO<sub>2</sub> 항온-항습기에서 단층으로 형성되도록 배양된 Hela 세포주를 0.25% Trypsin-EDTA (Gibco)으로 처리하여 세포를 분리한 후, hemocytometer를 이용하여 세포의 수를 세어 세포의 농도를 10<sup>8</sup> cells/mL 개로 만들었다. 그리고 30 gauge 인슐린 주사기로 암컷 nude mouse 등에 0.1 mL씩 피하로 주입 후 종양의 형성 유무를 관찰하여 3일에 1번씩 종양의 부피를 측정한다.

#### 2) 광감작제의 체내분포의 육안적 관찰

Nude mouse에 이식한 종양의 크기가 약 84 mm<sup>3</sup> (직경 5 mm)가 될 때 20% 5-ALA cream을 병변 부위에 0.15 g을 직경 1 cm 크기로 바르고 거즈와 테이프를 이용하여 밀봉하여 암실에 둔다. 이렇게 밀봉한 후 0, 3, 6, 9, 12, 24 시간마다 테이프를 제거한 후 초록색의 532 nm diode 레이저를 조사하여 피부를 통해 PpIX이 붉게 보이는 정도를 관찰하여 광감작제의 체내분포와 분포의 최대치가 되는 시간을 측정하였다.

### 3) 종양의 광역학치료

종양의 크기가 약  $84 \text{ mm}^3$ 에 도달한 총 25마리의 nude mouse를 4개의 실험군으로 나누었다. 제1군은 정상 대조군으로 생성된 종양에 아무런 처치를 하지 않는 군이며 ( $n=5$ ), 제2군은 종양에 ALA만 투여한 군이다( $n=5$ ). 제3군은 종양에 레이저 치료만 시행한 군으로 632 nm 다이오드 레이저를 400 mW의 세기로  $480 \text{ J/cm}^2$ 의 에너지를 20분 간 종양의 상방에서 조사하였다( $n=5$ ). 제4군은 광역학 치료 군으로( $n=10$ ), 제2군에서와 같이 nude mouse에 20% 5-ALA cream을 종양 부위에 0.15g 바르고 거즈와 테이프를 이용하여 앞의 실험에서 광감작제의 체내 분포가 최대치가 되는 시간동안 밀봉하였다가 이를 제거한 후에 제3군에서와 같은 방법으로 광역학치료를 시행하였다(Fig. 1).

### 5. 항암효과의 판정

4개의 각 군에서 치료 후 3일에 한 번씩 종양의 부피를 측정하여 항암효과를 판정하였다. 부피의 계산은 다음의 공식을 이용한다.

$$V = \left( \frac{4}{3} \times A \times B \times C \right) \times \frac{1}{2}$$

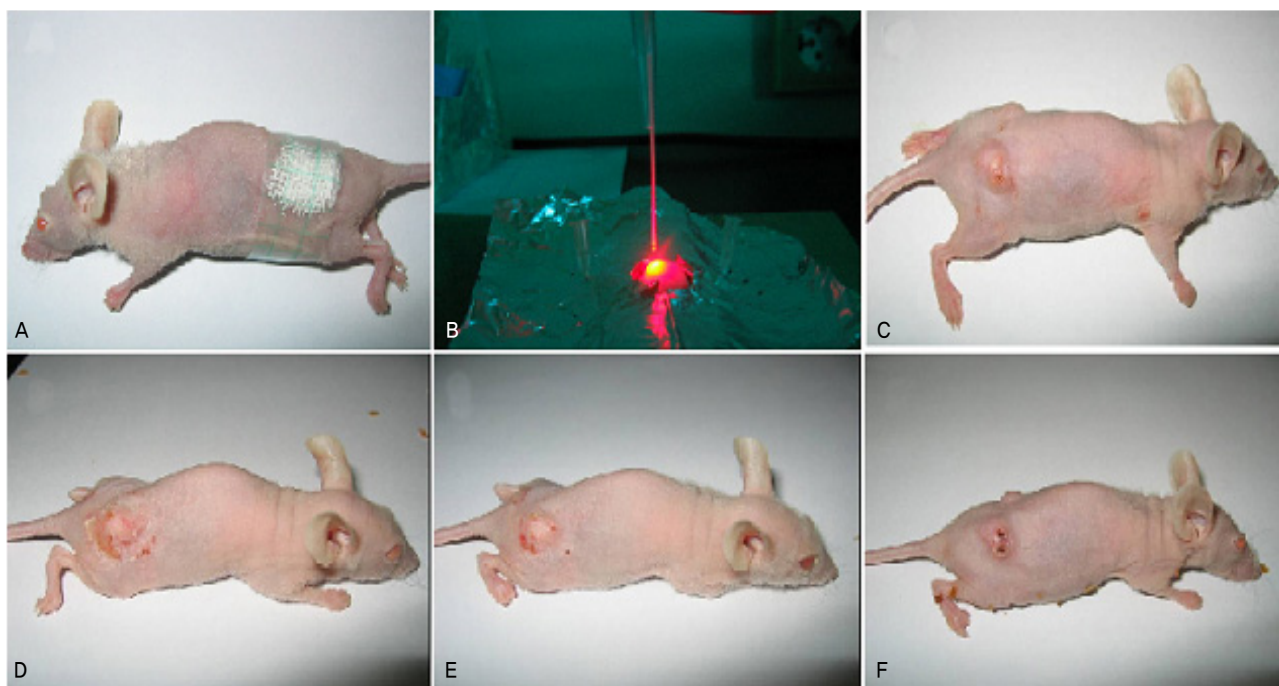
(V: 부피, A: 장축, B: 단축, C: 높이)

### 6. 조직병리학적 관찰

광역학치료를 시행한 4개의 실험군에서 항암효과를 확인한 다음 병리조직학적 관찰을 위해 종양조직을 적출하여 H&E 염색을 시행하였다.

### 7. 통계처리

이중 이식한 종양에서 항암효과의 차이는 SPSS ver. 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 통계프로그램을 이용하여 종양의 부피를 관찰 날짜별로 Kruskal-Wallis test를 이용하여 군간 비교하였다. 이때 통계적으로 유의성이 있는 경우 사후 검정 방법으로 Mann-Whitney test를 이용하여 두 군 간 평균치를 비교하였다. 실험결과 얻은 자료는 평균±표준편차로 나타내었다. 통계적 유의성은  $P < 0.05$  수준에서 평가하였다.



**Fig. 1.** The application of 5-aminolevulinic acid cream was occluded during the whole application period by covering the mouse all around with an adhesive dressing (A). The mice were given  $480 \text{ J/cm}^2$  of 632 nm diode laser on the skin overlying the tumor for 20 minutes (B). The tumor was recorded every 3 days after photodynamic therapy (PDT) (C: Before PDT, D: 9 days, E: 21 days, F: 30 days).

## 결 과

### 1. 광감작제의 체내 분포의 육안적 관찰

광감작제의 체내분포는 5-ALA cream 도포 후 9시간이 지난 후 가장 강도가 강하였다(Fig. 2). 따라서 본 연구에서의 광역학치료는 광감작제의 체내분포가 최대가 되는 도포 후 9시간을 본 실험에 적용하였다.

### 2. 종양의 광역학치료의 항암효과

#### 1) 제1군: 아무런 처치를 하지 않은 대조군

이종이식된 종양의 크기가 치료 전  $119.3 \pm 38.3 \text{ mm}^3$ 에서 30일 후  $316.4 \pm 85.2 \text{ mm}^3$ 로 지속적으로 증가하였다(Fig. 3).

#### 2) 제2군: 5-ALA cream만 종양에 투여한 군

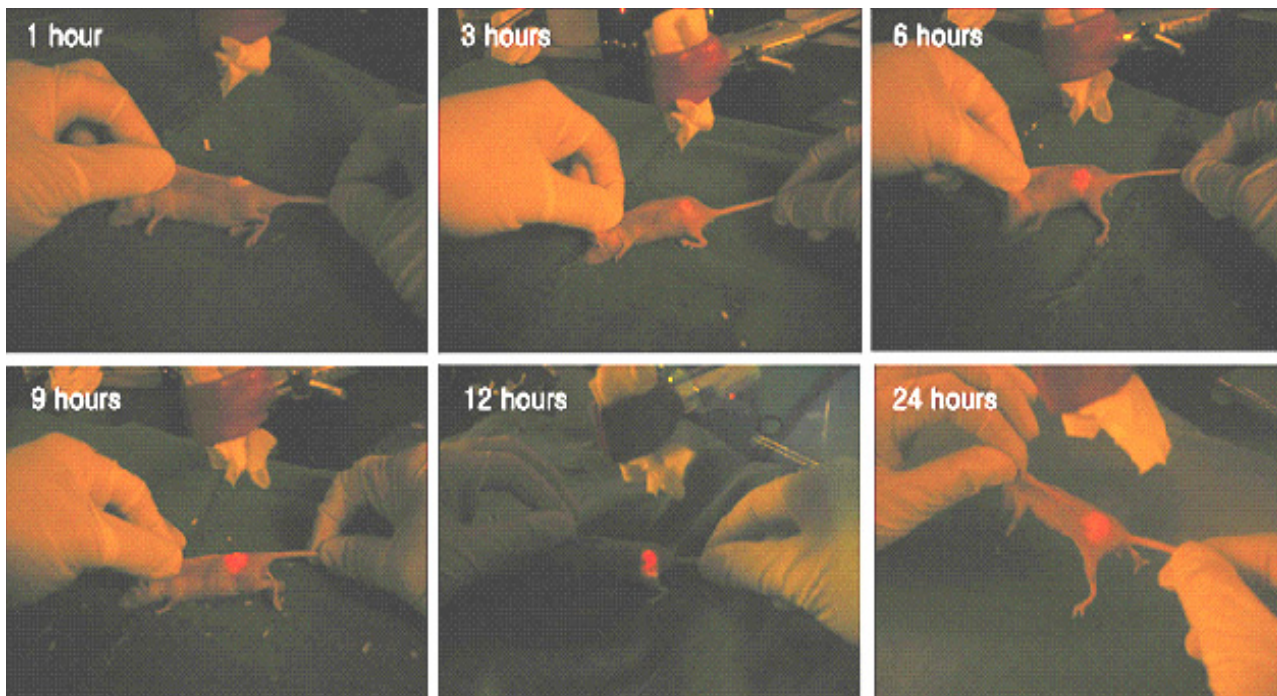
5-ALA를 도포하여 밀봉할 당시 종양의 크기는  $88.2 \pm 44.8 \text{ mm}^3$ 에서 30일 후  $295.0 \pm 122.7 \text{ mm}^3$ 로 종양의 크기가 증가하였으며, 대조군과 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 3).

#### 3) 제3군: 레이저만 종양에 조사한 군

632 nm diode 레이저만을 종양에 조사한 군은 종양의 크기가  $129.5 \pm 12.4 \text{ mm}^3$ 에서  $270.6 \pm 86.5 \text{ mm}^3$ 로 증가하였으나, 종양의 크기는 대조군과 유의한 차이는 없었다(Fig. 3).

#### 4) 제4군: 광역학치료군

광역학치료군은 종양의 크기가  $134.4 \pm 30.3 \text{ mm}^3$ 에서  $198.2 \pm 198.8 \text{ mm}^3$ 로 증가하여 시간이 경과함에 따라 1, 2, 3군에 비해 적게 증가하는 양상을 보였으나, 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 그러나 광역학치료군 중에는 치료 9~12일부터 치료에 대한 반응이 뚜렷하게 서로 다른 군들이 관찰되었다. 즉, 광학치료군 실험동물의 40% (4/10)에서는 치료에 반응하여 종양의 크기가 시간이 경과됨에 따라 현저히 감소되어 치료 6일부터는 비반응군에 비해 종양의 크기가 유의하게 적게 관찰되었다( $P < 0.05$ ) (Fig. 3). 그러나 60%의 실험동물에서는 치료 9~12일에서 종양의 크기가 증가되기 시작하였으며 이후 종양의 크기는 1, 2, 3군과 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Fig. 3).

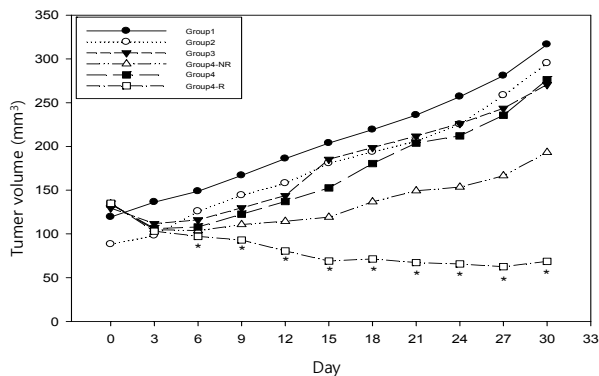


**Fig. 2.** The effective 5-aminolevulinic acid distribution times were measured by the degree of fluorescence of PpIX with using a 532 nm diode laser. The most effective distribution time after ALA injection was 9 hours.

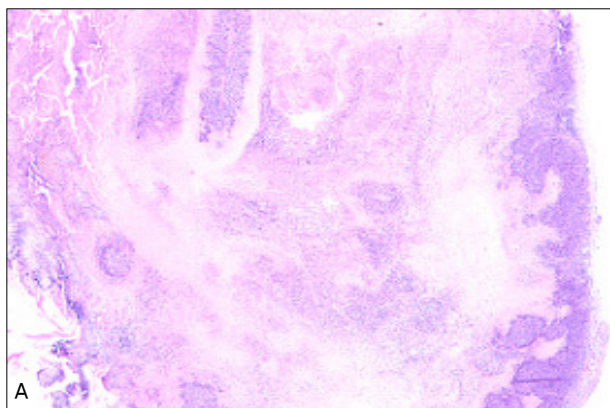


### 3. 이종이식된 종양에서 광역학치료 후의 조직병리학적 소견

이종이식한 종양을 4개의 군으로 나누어 치료한 후 그 결과를 병리조직학적으로 관찰하기 위해 H&E 염색하여 현미경으로 관찰하였다. 제1군인 정상 대조군으로 생성된 종양은 분화도가 낮고 혈관침윤도 심한 양상이었다. 제2군인 5-ALA만을 도포한 군에서는 종양세포의 형태가 더 분화가 나빠져 있었고, 종양거대세포(tumor giant cell)와 방추세포(spindle cell)도 관찰되었다. 제3군인 레이저만을 조사한 군에서는 종양세포가 밀집된 주변에 괴사가 관찰되었고, 종양 세포주위에 림프구 세포가 밀집되어 있었다. 제4군인 광역학치료군에서는 종양의 중심은 거의 괴사되어



**Fig. 3.** Comparison of the tumor volume changes of the xenografted tumor of HeLa cancer cells in nude mouse according to four different groups. \* Statistically significant difference between control and group IV respond group.



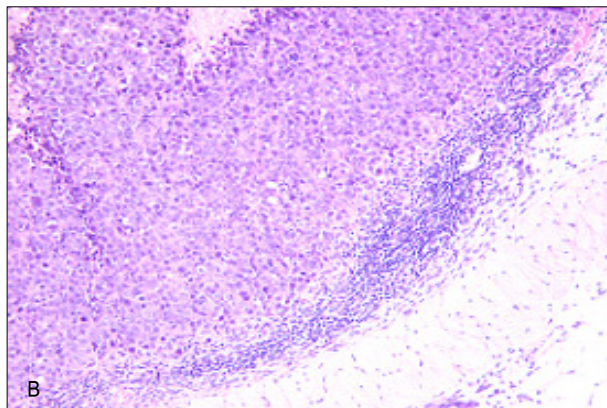
형체를 알아보기 힘들 정도였고, 종괴주변을 종양세포와 림프구 세포가 둘러싸고 있는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 4).

## 고 찰

지금까지의 암 치료 방법은 수술적 절제 및 방사선 요법, 화학 요법이 기본적인 세 축을 형성하였으나, 최근 들어 암 환자 치료에 있어서 기존의 전통적 치료법이 한계에 부딪히게 됨에 따라, 보다 근본적인 새로운 치료방식에 대한 요구가 증가되고 있다.<sup>10-12</sup>

광역학치료는 1978년 Dougherty 등<sup>13</sup>에 의해 기존의 치료에 반응하지 않는 피부 악성종양 환자 25명에 처음 시도되었다. 이후 1993년 캐나다에서 방광암에 Photofrin<sup>®</sup>을 이용한 광역학치료가 처음으로 승인된 후 독일, 일본 등에서도 hematoporphyrin 유도체(HpD)를 이용한 임상시술이 승인되었으며, 미국 FDA가 1996년 식도암 치료를, 1997년에는 초기 폐암치료에 PDT를 승인한 바 있다.<sup>14-16</sup>

최근 들어 20~30대 젊은 연령층에서 자궁경부 상피내종양과 자궁경부 상피내암이 발견되는 빈도가 증가함에 따라,<sup>17-19</sup> 광역학치료는 자궁경부 상피내암의 치료로서 기존에 시행되었던 방법에 비해 치료효과 면에서 뒤지지 않으며 자궁경부 기질의 파괴를 최소화한다는 장점이 있어 수태능력을 보존해야 하는 젊은 여성에서 효과적인 치료방법으로 제시되고 있다.<sup>20,21</sup> 이러한 연령층의 여성에서의 자궁경부 상피내종양은 그 치료에 있어서 임신과 분만을 고려해야 하므로 대단히 중요한 문제이다. 자궁경부 상피내종



**Fig. 4.** These pictures shows histological changes of xenografted tumor of HeLa cervical cancer cells in nude mouse at 30 days after photodynamic therapy in Group 4. The tumor size was decreased grossly, and there are small amounts of cancer tissue microscopically (H&E stain). Group 4 (partial remission): (A)  $\times 40$ , (B)  $\times 200$ .

양의 보편적인 치료법은 원추절제술, 루프환상투열절제술(loop electrosurgical excision procedure), 냉동요법, 그리고 레이저 박리술(laser ablation) 등이 있으며 이들 각각의 성공률은 90~98%로 보고되고 있다.<sup>22,23</sup> 임신을 원하는 젊은 여성에 있어 자궁경부 상피내종양이 있는 경우 위의 국소파괴요법과 수술적 치료법은 자궁경관의 협착과 점액선의 파괴 등으로 인한 불임을 유발할 수 있고, 임신이 되더라도 자궁경관 무력증, 양막조기파수, 유산, 또는 조산 등의 발생률을 증가시키는 단점이 있다.<sup>24-26</sup> 그러므로 높은 치료효과를 가지면서 자궁경부의 정상적인 조직과 구조를 유지할 수 있는 새로운 치료법이 요구되었으며 이를 위해 부인과 영역에서 광역학치료가 활발히 연구되고 시행되어 오고 있다.<sup>27-30</sup> 광역학치료는 정상 조직은 보존하면서 병든 조직만 선택적으로 제거할 수 있고, 대부분의 경우에 간단하게 국소마취만으로도 치료를 할 수 있기 때문에 시술이 용이하다. 따라서 수술 후 회복이 빠르고 입원기간을 단축시켜 환자를 일상으로의 복귀를 빨리 할 수 있게 해준다. 그러나 광역학치료는 원추절제술에 비해 시술 전 조직학적 검사를 시행하지 않기 때문에 이전에 진단되지 않았던 미세침윤암을 놓칠 수 있으며 또한 완전히 병변이 치료가 되었는지 확인하는 데 제약이 있다.<sup>31</sup> 이는 자궁경부 상피내암 치료에 광역학치료를 시행하는 데 있어서 반드시 풀어야 할 과제라 할 수 있다.

광역학치료의 작용기전에 관해서는 아직 논란의 여지가 많으나, 일반적으로 광역학치료의 필수적인 세 가지 요소는 광원, 광과민물질, 그리고 산소다. 적절한 파장과 적절한 양의 빛을 조사하여 광과민물질을 활성화시키면, 활성화된 광과민물질이 직접 작용하거나 반응성 산소를 생성하여 표적세포에 작용하게 된다.<sup>32</sup> 이때 반응성 산소나 활성화된 광감작제 같은 반응 분자들은 세포 내 단백질, 지질 및 DNA에 산화적 손상을 일으킨다. 미토콘드리아 세포막의 APT/ADP translocase나 APT synthetase 및 전자전달계 관련 단백질에 손상이 오면 ATP 생산이 저하되어 막전하 유지가 어렵게 되어 괴사가 일어나고, 미토콘드리아 세포막 지질에 손상이 오면 cytochrome C나 칼슘이 유리되어 세포가 죽게 된다. 또한 광역학치료에 의해 세포에는 여러 가지 gene expression의 변화, 즉 cell adhesion, surface receptor 및 cytokinase 변화가 나타나는데 그 결과로 인해 세포의 괴사나 고사가 유발될 수 있다.<sup>33-35</sup>

광역학치료를 수행하기 위해서는 체내의 풍부한 산소와 특정 파장의 빛에 활성을 나타낼 수 있는 광감작제와 광감작제를 충분히 활성화시킬 수 있는 빛이 필요하다. 이러한 광원으로는 레이저가 이용되는데, 레이저는 다른 광원에 비해 광감작제를 활성화시킬 수 있는 충분한 에너지를 가지고 있으며, 단일 파장의 빛을 방출할 수 있어 광감작제의 활성을 최대로 유도할 수 있는 장점이 있다.<sup>33</sup> 현재 광역학치료용 레이저는 diode 레이저가 보편적으로 사용되고 있다.

광역학치료에 사용된 제1세대 광감작제는 hematophorphyrin 유도체(HpD)를 근간으로 하는 Photofrin<sup>®</sup>과 Photogem<sup>®</sup>이 많이 사용되어 긍정적인 평가를 받아왔으나, 이들 1세대 광감작제는 종양 침투에 한계가 있고, 체내 배설시간이 길며, 치료 후 피부에 광과민증을 유발시키는 단점이 있다. 기존의 1세대 광감작제를 사용하여 자궁경부 상피내암의 광역학치료를 시행할 경우 광감작제 투여 후 4~5주간을 어두운 곳에서 지내야 하는 환자의 고통과 불편, 치료부위의 통증, 질 분비물 증가나 질 출혈 등의 후유증을 초래할 수 있으며, 치료비용 또한 많이 들어 기존의 치료에 비해 많이 시도되고 있지는 않다.<sup>7,8</sup> 그러나 향후 치료법이 보험에 적용되고 조직투과성이 높은 광감작제가 저렴한 가격에 공급되고, 암실 체류기간이 짧아진다면 자궁의 기능-보존적 측면에서 기존의 치료법과 경쟁력이 있을 것으로 생각된다.

5-ALA는 제2세대 광감작제로 헴(heme)의 생합성 경로 중 porphyrin의 전구물질로 외부에서 다량 투여할 때 음성 되먹이기 기전이 bypass되어 체내의 protoporphyrin (PpIX)의 양이 이를 헴으로 바꾸어 주는 ferrochelatase와 같은 효소의 능력보다 많아져 세포 내에 축적되게 된다.<sup>36,37</sup> 따라서 강력한 광감작제인 PpIX가 활성화되면 형광을 나타내고, 빛과 반응하여 세포 독성을 초래하기 특성 때문에 5-ALA는 암의 광역학적 진단 및 치료에 도입되었다. 5-ALA는 전신투여 후 24~48시간 내에 대사되기 때문에 장기간의 피부 광독성 위험을 줄일 수 있을 뿐만 아니라, 먹거나 피부에 바를 수 있어 피부암이나 구강 내 병변 등에 효과적으로 이용되고 있다.<sup>38</sup> 부인과적으로는 자궁경부 상피내종양에 국소적으로 도포할 수 있고, 헴의 전구물질인 PpIX의 형광관찰로 인해 자궁경부 상피내종양의 진단과 치료에 이용할 수 있다.<sup>39,40</sup>

본 연구에서는 광감작제의 국소도포 후 광감작제의 체내분포가 최대치가 되는 시간을 측정한 결과 9시간 후에 발광의 정도가 최대가 되는 것으로 나타나, 이중 이식한 nude mouse 등에 5-ALA를 국소 도포한 9시간 후에 632 nm diode레이저를 400 mW-480 J/cm의 세기로 종양의 상방에서 조사하였다. 대조군, 5-ALA만 도포한 군, 그리고 레이저 치료만 시행한 군과 비교했을 때 광역학치료가 종양의 크기를 의미 있게 감소시키지는 못하였다.

광감작제를 전신 투여하여 시행한 광역학치료에서 자궁경부 상피내암 치료효과는 원주절제술에 비해 치료-효과 면에서 뒤지지 않는 것으로 보고되고 있다.<sup>20</sup> 그러나 광역학치료는 조직검사를 시행하지 않기 때문에 미세침윤암을

완전히 배제할 수 없다는 단점을 가지고 있다. 또한 전신 투여 시 발생하는 피부광과민증은 일상생활을 살아가야 하는 환자의 입장에서는 많은 불편함을 야기시킨다. 따라서 자궁경부 상피내암 치료에서 광감작제의 전신투여보다는 국소도포는 분명한 장점이 있다. 본 연구에서는 광감작제의 국소도포로 자궁경부암의 완전관해를 기대할 수 없었으나 광역학치료군 중 반응군(40%)은 비반응군(60%)에 비해 의미있는 감소를 보인 점은 향후 이러한 차이를 나타낸 원인과 기전에 대한 지속적인 연구와 광역학치료의 효율을 높이기 위한 국소적 광감작제의 투여 농도와 효율적인 레이저 조사법 등에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## 참고문헌

- Gomer CJ, Rucker N, Ferrario A, Wong S. Properties and applications of photodynamic therapy. *Radiat Res* 1989; 120: 1-18.
- Kim YW, Park CH, Ro DY, Sin JI, Bae SM, Lee JM, et al. A case of glassy cell carcinoma of the uterine cervix with photodynamic therapy prior to radical surgery. *Korean J Obstet Gynecol* 2003; 46: 842-6.
- Joo SK, Ahn JC, Chung PS, Oh CH. Cell death pattern of photodynamic therapy using Hyperion and 532 nm DPSS laser in Hela cells. *J Korean Photodyn Assoc* 2005; 2: 33-7.
- Daniell MD, Hill JS. A history of photodynamic therapy. *Aust N Z J Surg* 1991; 61: 340-8.
- Honigsmann H, Gschnait F, Konrad K, Wolff K. Photochemotherapy for pustular psoriasis (von Zumbusch). *Br J Dermatol* 1977; 97: 119-26.
- Kick G, Messer G, Plewig G. Historical development of photodynamic therapy. *Hautarzt* 1996; 47: 644-9.
- Lee C, Kim J, Jeong CH, Na YJ, Kim IH, Lee SY, et al. Photodynamic therapy in the management of cervical intraepithelial neoplasia. *Korean J Gynecol Oncol Colposc* 2004; 15: 85-91.
- Stender IM, Borgbjerg FM, Villumsen J, Lock-Andersen J, Wulf HC. Pain induced by photodynamic therapy of warts. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2006; 22: 304-9.
- Robinson DJ, de Bruijn HS, de Wolf WJ, Sterenborg HJ, Star WM. Topical 5-aminolevulinic acid-photodynamic therapy of hairless mouse skin using two-fold illumination schemes: PpIX fluorescence kinetics, photobleaching and biological effect. *Photochem Photobiol* 2000; 72: 794-802.
- Ackroyd R, Kely C, Brown N, Reed M. The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochem Photobiol* 2001; 74: 656-69.
- Kato H. History of photodynamic therapy: past, present and future. *Gan To Kagaku Ryoho* 1996; 23: 8-15.
- Wei W, Shen K. Photodynamic therapy and its application in gynecologic oncology. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 2003; 25: 484-6.
- Dougherty TJ, Kaufman JE, Goldfarb A, Weishaupt KR, Boyle D, Mittleman A. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res* 1978; 38: 2628-35.
- Ahn TG, Kang MC, Park JS, Cho YS, Choi BC, Kim DW, et al. A case of treatment using high-dose Megestrol Acetate (Megace(R)) combined with PDT (Photodynamic Therapy) on early stage of endometrial carcinoma, in nulliparous woman. *Korean J Obstet Gynecol* 2005; 48: 1023-8.
- Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW, Jori G, Kessel D, Korbek M, et al. Photodynamic therapy. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 889-905.
- Hopper C. Photodynamic therapy: a clinical reality in the treatment of cancer. *Lancet Oncol* 2000; 1: 212-9.
- Collins Y, Einstein MH, Gostout BS, Herzog TJ, Massad LS, Rader JS, et al. Cervical cancer prevention in the era of prophylactic vaccines: a preview for gynecologic oncologists. *Gynecol Oncol* 2006; 102: 552-62.
- Richart RM. Causes and management of cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer* 1987; 60: 1951-9.
- Simon P, Dupond I. Screening for cervical cancer. *Rev Med Brux* 2006; 27: S218-20.
- Barnett AA, Haller JC, Cairnduff F, Lane G, Brown SB, Roberts DJ. A randomised, double-blind, placebo-controlled trial of photodynamic therapy using 5-aminolaevulinic acid for the treatment of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 2003; 103: 829-32.
- Bodner K, Bodner-Adler B, Wierrani F, Kubin A, Szolts-Szolz J, Spangler B, et al. Cold-knife conization versus photodynamic therapy with topical 5-aminolevulinic acid (5-ALA) in cervical intraepithelial neoplasia (CIN) II with associated human papillomavirus infection: a comparison of preliminary results. *Anticancer Res* 2003; 23: 1785-8.
- Jones JM, Sweetnam P, Hibbard BM. The outcome of pregnancy after cone biopsy of the cervix: a case-control study. *Br J Obstet Gynaecol* 1979; 86: 913-6.
- Leiman G, Harrison NA, Rubin A. Pregnancy following conization of the cervix: complications related to cone size. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 136: 14-8.
- Cotter A, Gardeil F, Varley M, Skinner J, Turner MJ. Are the immediate complications of conisation with the large loop similar to those with the knife? *J Obstet Gynaecol* 2000; 20: 63-4.
- Kyrgiou M, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Prendiville W, Paraskevaidis E. Obstetric outcomes after conservative treatment for intraepithelial or early invasive cervical lesions: systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2006; 367: 489-98.
- Yang JX, Shen K, Lang JH, Huang HF, Wu M, Pan LY. Cervical carcinoma in situ: a clinical and pathological analysis of 118 cases. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2006; 86: 300-2.

27. Andikyan V, Kronschnabl M, Hillemanns M, Wang X, Stepp H, Hillemanns P. Fluorescence diagnosis with 5-ALA thermogel of cervical intraepithelial neoplasia. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch* 2004; 44: 31-7.
28. Andrejevic-Blant S, Major A, Ludicke F, Ballini JP, Wagnieres G, van den Bergh H, et al. Time-dependent hexaminolaevulinate induced protoporphyrin IX distribution after topical application in patients with cervical intraepithelial neoplasia: A fluorescence microscopy study. *Lasers Surg Med* 2004; 35: 276-83.
29. Hillemanns P, Korell M, Schmitt-Sody M, Baumgartner R, Beyer W, Kimmig R, et al. Photodynamic therapy in women with cervical intraepithelial neoplasia using topically applied 5-aminolevulinic acid. *Int J Cancer* 1999; 81: 34-8.
30. Wierrani F, Kubin A, Jindra R, Henry M, Gharebaghi K, Grin W, et al. 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy of intraepithelial neoplasia and human papillomavirus of the uterine cervix-a new experimental approach. *Cancer Detect Prev* 1999; 23: 351-5.
31. Allison RR, Cuenca A, Downie GH, Randall ME, Bagnato VS, Sibata CH. PD/PDT for gynecological disease. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2005; 2: 51-63.
32. Ahn WS, Bae SM, Huh SW, Lee JM, Namkoong SE, Han SJ, et al. Necrosis-like death with plasma membrane damage against cervical cancer cells by photodynamic therapy. *Int J Gynecol Cancer* 2004; 14: 475-82.
33. Harrod-Kim P. Tumor ablation with photodynamic therapy: introduction to mechanism and clinical applications. *J Vasc Interv Radiol* 2006; 17: 1441-8.
34. Lee WY, Park JH, Kim BS, Han MJ, Hahn BS. Chlorophyll derivatives (CpD) extracted from silk worm excreta are specifically cytotoxic to tumor cells in vitro. *Yonsei Med J* 1990; 31: 225-33.
35. Muller S, Walt H, Dobler-Girdziunaite D, Fiedler D, Haller U. Enhanced photodynamic effects using fractionated laser light. *J Photochem Photobiol B* 1998; 42: 67-70.
36. Peng Q, Warloe T, Berg K, Moan J, Kongshaug M, Giercksky KE, et al. 5-Aminolevulinic acid-based photodynamic therapy. Clinical research and future challenges. *Cancer* 1997; 79: 2282-308.
37. Untch M, Korell M, Kirschstein M, Hepp H. The synergistic effect of delta-aminolevulinic acid and photodynamic laser therapy based on an in vitro model of the ATP tumor chemosensitivity test. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch* 1995; 35: 85-9.
38. Regula J, MacRobert AJ, Gorchein A, Buonaccorsi GA, Thorpe SM, Spencer GM, et al. Photosensitisation and photodynamic therapy of oesophageal, duodenal, and colorectal tumours using 5 aminolaevulinic acid induced protoporphyrin IX-a pilot study. *Gut* 1995; 36: 67-75.
39. Keefe KA, Tadir Y, Tromberg B, Berns M, Osann K, Hashad R, et al. Photodynamic therapy of high-grade cervical intraepithelial neoplasia with 5-aminolevulinic acid. *Lasers Surg Med* 2002; 31: 289-93.
40. Pahernik SA, Borzlar A, Hillemanns P, Dellian M, Kirschstein M, Abels C, et al. Pharmacokinetics and selectivity of aminolevulinic acid-induced porphyrin synthesis in patients with cervical intra-epithelial neoplasia. *Int J Cancer* 1998; 78: 310-4.

## = 국문초록 =

**목적:** 자궁경부암에서 5-aminolevulinic acid (5-ALA)의 국소적 투여에 의한 광역학치료의 항암치료효과를 알아보고자 하였다.

**연구 방법:** Nude mouse에 인체의 자궁경부암세포인 hela cell을 이종이식 후에 일정크기의 종양이 형성되면 20% 5-ALA cream을 만들어 종양에 국소도포하고 밀봉하여 3시간마다 532 nm diode laser를 종양에 조사하여 발광되는 정도를 관찰하여 5-ALA의 생체 내 분포와 최대농도로 종양에 분포되는 시간을 알아보았다. 이렇게 알아낸 시간을 치료를 위한 최적의 투여시간으로 간주하고 같은 방법으로 이번에는 632 nm diode laser를 이용하여 480 J/cm<sup>2</sup>의 에너지로 광역학치료를 시행하고 30일간 3일마다 그 크기를 측정하여 치료효과를 판별하였다. 이종이식된 25마리의 nude mouse를 대조군, 5-ALA만 투여한 군, laser만 조사한 군, 광역학치료 군으로 나누어 서로 비교분석하여 종양의 치료효과를 알아보았다.

**결과:** 5-ALA 국소투여 후 9시간 후에 가장 많이 발광되었다. 광역학치료 군에서 40% (4/10)는 종양의 크기가 감소하였지만, 이를 제외한 나머지 실험군에서는 지속적인 종양 크기 증가가 관찰되었다.

**결론:** 본 연구에서는 5-ALA의 국소투여 후 9시간이 치료에 가장 적절한 시간임을 알 수 있었다. 5-ALA 국소투여에 의한 광역학치료는 대조군에 비해 유의한 종양크기의 감소가 없었으나, 반응군(4/10)의 경우는 대조군에 비해 유의한 종양의 크기 감소가 관찰되었다( $P<0.05$ ).

**중심단어:** 광역학치료, 5-ALA, 자궁경부암