Journal of Radiation Industry 5 (3) : 197~202 (2011)

은나노입자의 방사성 동위원소 운반체 적용 유효성 검증 연구

장범수 · 이주상 · 박해준 · 김화정 · 박상현*

한국원자력연구원 방사선과학연구소 방사선생명공학연구부

Feasibility Study on Silver Nanoparticle Application to a Radioisotope Carrier

Beom-Su Jang, Joo-Sang Lee, Hae-Jun Park, Hwa-Jung Kim and Sang Hyun Park*

Radiation Research Division for Biotechnology, Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 580-185, Korea

Abstract - In this study, an Ag-polyaniline-silica (Ag-PANI-silica) nanoparticle was evaluated as a radioisotope carrier. An Ag-PANI-silica nanoparticle was incubated in the ^{125}I solution for a duration of 24 hr to test its radioisotope absorptivity. During the incubation, radioactivity of the nanoparticle was measured at 3, 6, 12, and 24 hr. After a 24 hr incubation, ^{125}I-Ag-PANI-silica nanoparticle was incubated in a fresh saline for a duration of 48 hr to check its stability. Additionally, the ^{125}I-Ag-PANI-silica nanoparticle was injected to the ICR mouse to investigate its in-vivo distribution characteristics. The ^{125}I absorption yield of the Ag-PANI-silica nanoparticle was higher than 95% after a 6 hr incubation period in the ^{125}I solution. And ^{125}I-Ag-PANI-silica was stable for 48 hr at 80% yield at room temperature. The SPECT/CT image of a mouse that received ^{125}I-Ag-PANI-silica complex showed that the ^{125}I-Ag-PANI-silica complex was distributed in the lung, stomach and thyroid at 30 min post injection. From these results, the Ag-PANI-silica nanoparticle has good radio-iodine carrying property and can be applicable for the purpose of diagnosis and therapy.

Key words : Ag-PANI-silica nanoparticle, ^{125}I, Radioisotope carrier, SPECT/CT

서 론

나노물질은 흔히 1~100 nm를 기본단위로 하는 물질을 말한다. 나노물질은 극도로 작은 크기와 단위 부피당 매우 큰 표면적에서 비롯되는 여러 가지 고유의 물리적 특성을 가지고 있다. 나노물질은 각 단위의 크기, 조성, 모양, 조합형태, 각 물질의 표면 형태에 따라 다양한 특성을 나타내게 된다. 나노물질의 무한한 응용 가능성 때문에 학계 및 산업계에 비상한 관심을 모아 왔다. 미세한 나노물질을 원하는 크기나 모양, 조성을 가질 수 있도록 조절하고 더 나아가서는 나노물질을 기본 단위로 한 새로운 조합 구조를 만드는 방법과 그러한 조합 구조가 가지는 새로운 광학적, 전기적, 자기적 물리화학적 특성에 대하여도 아주 활발한 연구가 진행되고 있다 (Mirkin *et al*. 1996; Bruchez *et al*. 1998; Jin *et al*. 2001; Ou-

* Corresponding author: Sang Hyun Park, Tel. +82-63-570-3370, Fax. +82-63-570-3371, E-mail. parksh@kaeri.re.kr

yang *et al*. 2001; Milliron *et al*. 2004). 나노입자는 미세한 구조와 정확한 조절에 기인한 다양한 특성으로 인해 바이오센서 (biosensor), 단일분자전자 태양전지 (single molecule electronics solar cell), 약물전달 (drug delivery), 분자기계 (molecular machine) 등 광범위한 연구분야에 활발히 이용되고 있다 (Cui *et al*. 2001; Allen *et al*. 2004; Badjic *et al*. 2004; Barth *et al*. 2005; Yin *et al*. 2005; Rosi *et al*. 2006).

나노입자를 식품 및 의약품 소재로 활용하여 생체에 적용하기 위해서는 생체적합성, 생분해성 및 잠재적 독성여부 등에 대한 추가적인 검증이 필요하다. 나노물질을 활용한 약물전달체 연구는 생체적합성 나노소재에 표적지향성을 갖는 타겟 리간드, 항체, 펩티드를 이용하여 표적 기능을 향상시킬 수 있었다. 나노기술을 통해 종양의 표적화가 가능해지고, 약물, 유전자, 조영제를 질병 부위에 효과적으로 전달할 수 있으며, 외부 자극에 의하여 약물 방출을 제어할 수 있을 뿐만 아니라 약물의 반응까지도 영상화할 수 있다. 나노입자들의 크기가 암세포에 비하여 100～1,000배 가량 작기 때문에 쉽게 세포벽을 통과할 수 있다. 또한 암 조직 주변의 느슨한 신생혈관과 림프관을 통한 배출기능의 저하로 인하여 정상조직에 비해 오래 머무르는 현상을 나타내어 나노입자를 통한 약물 및 조영제 전달을 위하여 효과적으로 사용되고 있다 (Maeda *et al*. 2000). 기존의 저분자 약물에 비교하여 고분자 나노입자를 활용한 전달 시스템을 사용할 경우 10～100배에 이르는 많은 양의 약물을 종양에 전달할 수 있고 이를 통해 약효 개선과 부작용 감소의 효과를 가져 올 수 있다 (Kaul and Amiji 2002). 나노입자에 다양한 화학적 방법을 통해 여러 가지의 약물들과 조영제들이 봉입되면 암세포 특이적인 표적 물질들이 표지된 다기능성 나노약물전달체 구축이 가능하여 암 표적화, 치료 및 영상화에 활용될 수 있다 (Torchilin 2006; Sanvicens and Marco 2008).

방사성 동위원소는 검출감도가 높고 투과력이 높아 체내영상에 적합하여 1960년대부터 핵의학분야에서 진단 및 치료목적으로 널리 활용되었다. 표적 지향형 약물전달 나노입자를 개발하기 위해 나노입자에 방사성 동위원소를 표지하여 체내 분포를 영상 분석하는 방법이 사용되고 있다.

최근 본 연구팀에서는 감마선 조사방법을 이용하여 은나노입자 (Ag-polyaniline-silica: Ag-PANI-silica)를 개발하였으며, 높은 안정성을 나타내었다 (Kim *et al*. 2010). 개발된 은나노입자를 기반으로 표적 지향형 약물전달체를 개발하기 위해 방사성 동위원소를 활용한 영상화 선행연구가 요구되었다.

따라서, 본 연구에서는 은나노입자의 방사성 동위원소 운반체 적용성과 영상 프로브로의 활용가능성을 평가하기 위해 은나노입자의 ^{125}I 흡착력 및 누출율을 시험하고 소동물 생체영상시험을 수행하였다.

재료 및 방법

1. 재료

아닐린 단량체 (aniline, 99.9%), N-methyl-2-pyrrolidone (NMP, 99%)는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였으며, 질산은 ($AgNO_3$), 소듐실리케이트, 이소프로필알콜 (IPA)과 그 밖의 시약은 분석용 등급의 시약을 OCI (서울, 한국)에서 구입하여 사용하였다. 실험에 사용된 용액들은 Milli-Q Plus water purification system (Millipore Co., Ltd., USA; 최종 저항값 18.2 MΩcm^{-1}) 정제수를 탈기체화 후 사용하였으며, [Na^{125}I]는 Perkin Elmer (Massachusetts, USA)에서 구입하였다.

2. Ag-PANI-silica 나노입자의 제조

Ag-PANI-silica 나노입자는 Kim 등의 방법에 따라 제조하였다 (Kim *et al*. 2010). 간략히 설명하면, 3차 증류수

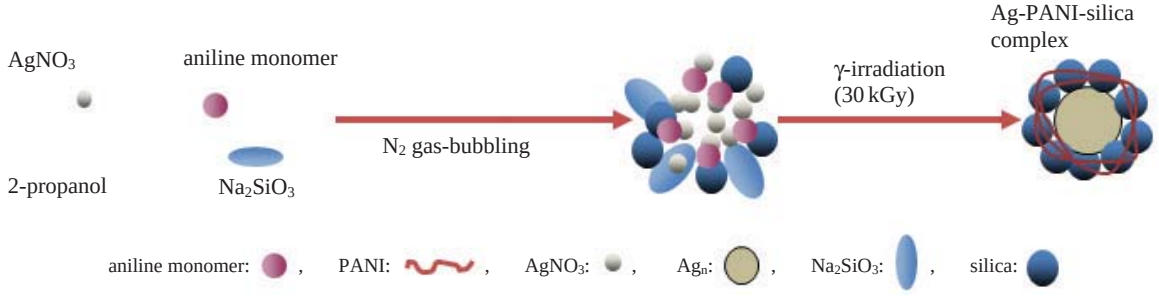


Fig. 1. Preparation process of Ag-PANI-silica complex by γ-irradiation. Ag-polyaniline-silica nanoparticle was synthesized by ^{60}Co γ-irradiation as total dose of 30 kGy at the room temperature.

에 질산은($AgNO_3$, 1.0 g), 아닐린 단량체 (1.0 ml), 소듐실리케이트(Na_2SiO_3, 1.0 g) 및 이소프로필알콜 (Isopropyl alcohol, 12 ml)을 순차적으로 넣고 3차 증류수를 이용하여 최종 200 ml으로 반응용액을 제조하였다. 반응용액을 상온에서 약 1시간 30분 정치시킨 후, 산소를 제거하기 위해 상기 반응용액에 질소기체를 주입하여 약 30분간 질소기체 기포를 발생시켰다.

산소가 제거된 상기 반응용액을 한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소 내 ^{60}Co 감마선 조사시설 (150 TBq of capacity, ACEL, Canada)을 이용하여 상온에서 10 kGyhr^{-1} 조사선량율로 총 30 kGy의 흡수선량을 얻도록 조사하여 액체상태의 나노복합체 (Ag-PANI-silica)를 제조하였다 (Fig. 1). 이렇게 감마선조사 방법을 활용하여 제조된 Ag-PANI-silica 나노입자를 원심분리하여 침전부분을 64°C의 진공 건조기에서 24시간 동안 건조시켜 분말 형태로 수득하였다.

3. Ag-PANI-silica 나노입자의 방사성 동위원소 흡착능 및 방출시험

Ag-PANI-silica 나노입자의 방사성 동위원소 운반 능력을 시험하기 위하여 ^{125}I의 흡착 능력 및 방출율을 시험관 조건에서 실험하였다. 실온조건 하에서 1.5 ml 튜브에 각각 Ag-PANI-silica 나노입자 5 mg를 50 μl의 ^{125}I 용액 (평균 1.85 MBq)에 넣고 24시간까지 교반하면서 나노입자의 ^{125}I 흡착능을 평가하였다. 흡착반응 중 3, 6, 12, 24시간에 각각 1개의 튜브를 표본 추출하였다. 1,000 RPM에서 10분간 원심분리하고, 상층의 ^{125}I 용액을 제거하였다. 생리식염수로 2회 반복하여 세척한 후, 나노입자에 흡착된 ^{125}I의 방사능을 dose calibrator (Capintec Inc, USA)를 이용하여 측정하였다. 세척후 계측된 나노입자에 흡수된 방사능을 세척전 초기 ^{125}I 균등액 방사능으로 나누어 Ag-PANI-silica 나노입자의 ^{125}I 흡착율을 백분율로 나타냈다.

은나노입자에 흡착된 ^{125}I의 안정성실험을 위해 흡착실험에서와 같이 Ag-PANI-silica 나노입자 5 mg을 50 μl의 ^{125}I 용액 (평균 1.85 MBq)을 넣고 24시간 흡착시켜 얻은 ^{125}I이 흡착된 Ag-PANI-silica 나노입자 (^{125}I-Ag-PANI-silica)를 사용하였다. ^{125}I-Ag-PANI-silica를 1.5 ml 튜브에 넣고 200 μl의 생리식염수를 첨가한 후 교반하면서 흡착된 ^{125}I가 방출되도록 하였다. ^{125}I 방출개시 후 1, 2, 4, 8, 16, 24, 48시간에 각각 1개의 튜브를 표본 추출하여, 흡착실험에서와 같은 방법으로 세척한 후 나노입자에 잔류한 ^{125}I의 방사능을 측정하였다.

4. 방사성 요오드 흡착 은-폴리아닐린-실리카 (^{125}I-Ag-PANI-silica) 나노입자의 체내 영상평가

^{125}I-Ag-PANI-silica 나노입자의 주요 섭취장기 및 동물체내에서도 ^{125}I 흡착능력을 유지할 수 있는지 여부를 평가하기 위하여 마우스에서 영상연구를 실시하였다.

실험동물은 오리엔트(주)로부터 6주령의 암컷 ICR마우스를 구입하여 한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소 실험동물실의 특정병원균부재실험구역에서 순화 후 사용하였다. 사료 및 음료는 자유섭취가 가능하도록 하였으며, 사육실의 온·습도 조건은 23±2°C, 55±5%와 12시간 명암자동조절 조건 하에서 사육되었다. 본 동물실험은 한국원자력연구원 실험동물윤리위원회의 승인을 받아 실시되었다.

마우스에 ^{125}I-Ag-PANI-silica 용액 0.2 ml (7.4 MBq)을 미정맥주사하고, 30분 및 20시간 후에 소동물영상장비인 Inveon Multimodality System (Siemens, Germany)를 이용하여 SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography, 단일광자방출단층촬영) 영상을 획득하였다. 계획 영상시간에 실험동물을 2% isoflurane 흡입마취상태에서 Inveon Multimodality System에 위치하고 SPECT 및 CT 스캔을 실시하였으며, Inveon Research Workplace 소프트웨어를 이용하여 SPECT 및 CT 영상을 정합하고 영상분석하였다.

결과 및 논의

본 연구팀에서 개발한 Ag-PANI-silica 나노입자의 방사성 동위원소 흡착능과 체내 분포영상연구를 통해 나노입자의 방사성 동위원소 운반체로서의 활용 가능성을 확인하고 생체영상시험을 통하여 분포특성을 평가하였다.

1. Ag-PANI-silica 나노입자 제조

감마선조사 방법을 활용하여 제조된 Ag-PANI-silica 나노입자의 균질성 및 크기를 확인하기 위하여 주사전자현미경 (SU-70, HITACHI, Japan)을 사용하여 나노입자들의 표면형태를 관찰하여 균질하게 생성된 것을 확인하였다 (Fig. 2).

2. Ag-PANI-silica 나노입자의 방사성 동위원소 흡착능 및 안정성 시험

Ag-PANI-silica 나노입자의 방사성 동위원소 흡착능

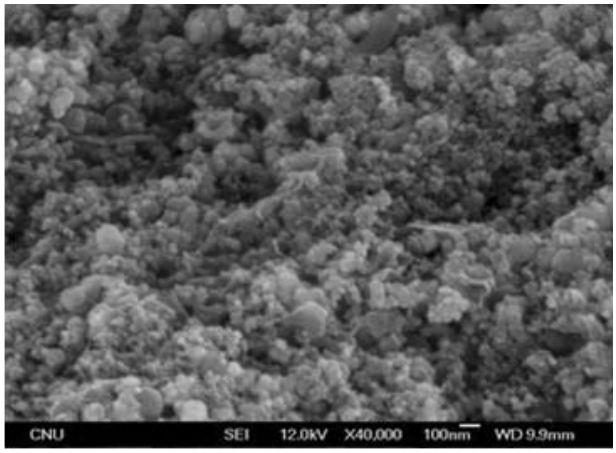


Fig. 2. Nanosized Ag-PANI-silica SEM image (100 nm scale).

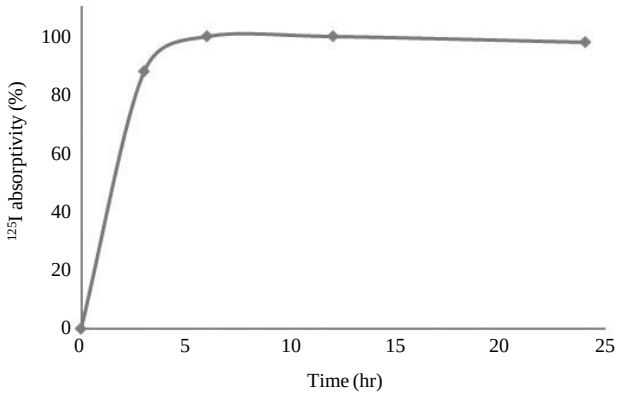


Fig. 3. Radioisotope absorption profile of Ag-PANI-silica nanoparticle upto 24 hr. Ag-PANI-silica nanoparticle was incubated in the ^{125}I solution for 24 hr. During the incubation absorbed radioactivity of nanoparticle aliquot was measured after twice washing with saline at 3, 6, 12 and 24 hr.

시험결과, Ag-PANI-silica 나노입자 5 mg은 ^{125}I 용액 50 µl에서 3시간 및 6시간에 초기방사능(1.85 MBq)의 88% 및 100%를 흡착하는 것으로 나타났다. 또한, 12시간 및 24시간에 측정한 Ag-PANI-silica 나노입자의 ^{125}I 흡착능은 각각 100%, 98%로 나타내었다. 따라서, Ag-PANI-silica 나노입자는 6시간 이상 반응시 ^{125}I을 98% 이상 흡착능을 유지하는 것으로 평가되었다(Fig. 3).

^{125}I-Ag-PANI-silica 나노입자에 대한 안정성평가 결과, ^{125}I-Ag-PANI-silica 나노입자 5 mg은 200 µl의 생리식염수에서 8시간 교반후에도 ^{125}I 초기 방사능의 90%를 유지하는 것으로 나타났다. 48시간 경과후에도 ^{125}I 초기 방사능의 78%가 ^{125}I-Ag-PANI-silica나노입자에 잔류한 것으로 나타나 높은 안정성을 유지하는 것으로 평가되었다(Fig. 4).

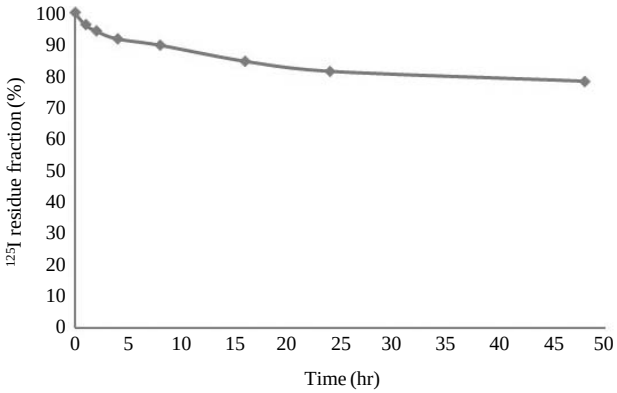


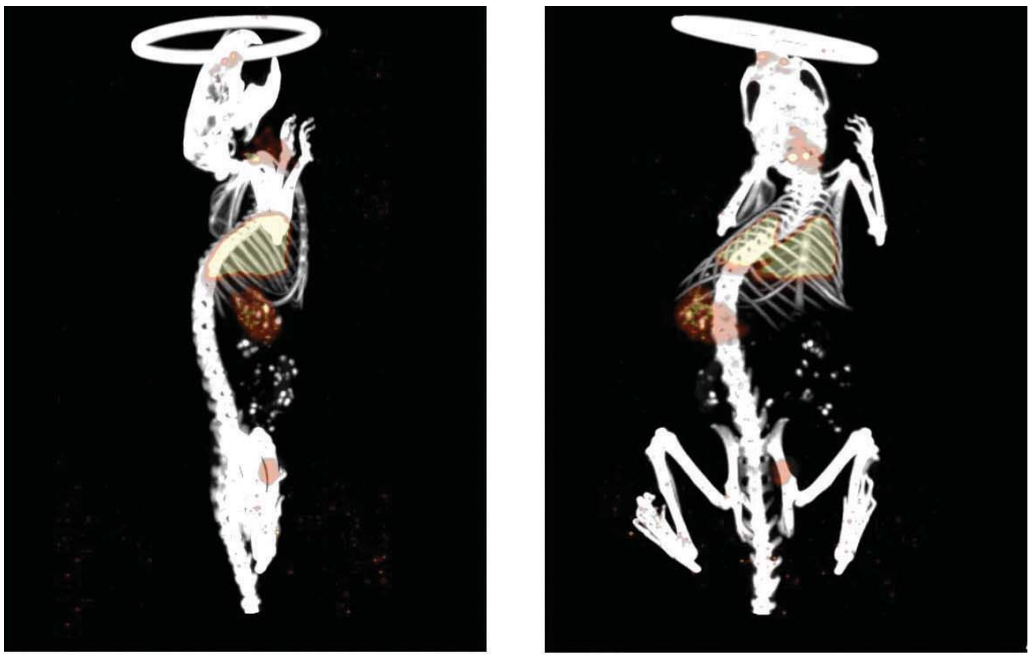
Fig. 4. Radioisotope residue profile of Ag-PANI-silica nanoparticle upto 48 hr. ^{125}I-Ag-PANI-silica nanoparticle was incubation in the 40 times excess volume of saline for 48 hrs. During the incubation remaining radioactivity of nanoparticle aliquot was measured after twice washing with saline at 1, 2, 4, 8, 16, 24 and 48 hr.

Ag-PANI-silica 나노입자의 방사성 동위원소 흡착능 및 안정성 시험결과를 통해 Ag-PANI-silica 나노입자는 실험에 사용한 ^{125}I 뿐 아니라, ^{123}I, ^{124}I, ^{131}I 등 다양한 방사성 요오드 흡착제 및 운반체로 활용할 수 있을 것으로 평가되었다.

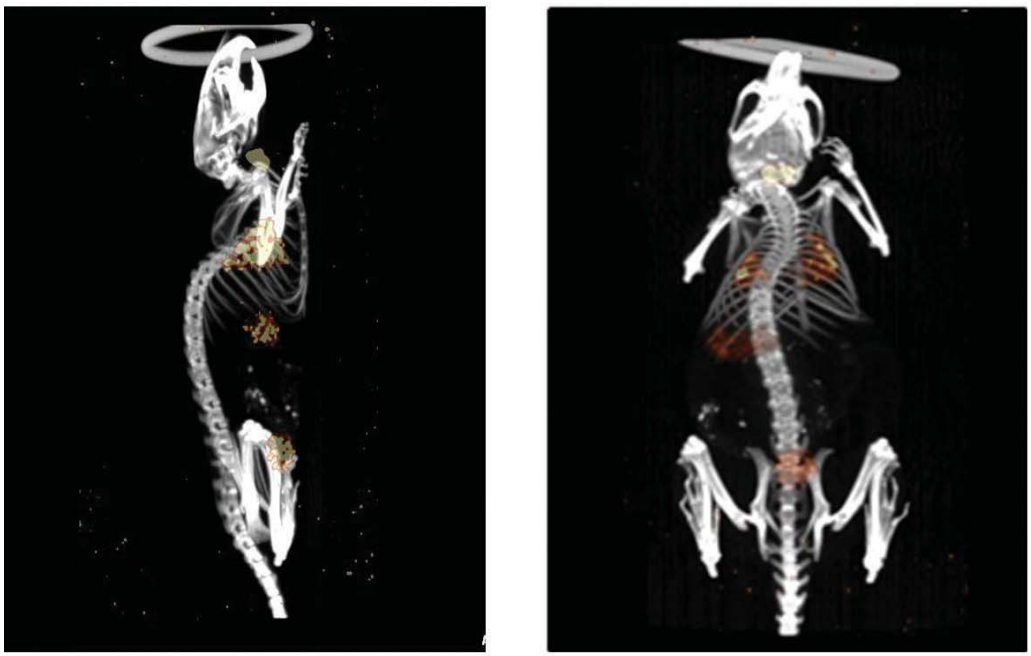
3. ^{125}I-Ag-PANI-silica 나노입자의 체내 영상 분석

^{125}I-Ag-PANI-silica의 실험동물 체내 영상실험 결과, 주사 후 30분 영상에서 주로 폐에 집적이 확인되었으며, 일부가 위장에 그리고 소량이 갑상선과 방광에서 관찰되었다(Fig. 5). 주입된 ^{125}I-Ag-PANI-silica 나노입자가 생체 내에서 일차적으로 폐에 집적되는 것으로 해석된다. 이러한 분포는 20시간 후의 영상에서도 확인되었다. 김 등이 랫드를 이용한 나노입자의 크기 및 형태에 따른 체내 분포연구에서 폐에 나노입자가 높은 농도로 집적되는 것으로 보고한 바 있다(김 등 2010). 그러나, 김 등의 연구결과와 달리 본 연구에서는 신장, 간 및 비장 등 다른 장기에 집적은 미미한 것으로 나타내었다. 20시간 영상에서도 분포경향은 비슷하나 전신에 남아있는 방사능의 저하가 관찰되었으며 이는 점진적 나노입자의 배출 또는 탈할로겐효소의 존재로 인해 ^{125}I-Ag-PANI-silica 나노입자에서 ^{125}I가 일부 누출된 것으로 추정되었다.

^{125}I-Ag-PANI-silica 나노입자를 이용한 체내 영상 연구를 통해 표면을 수식하지 않은 Ag-PANI-silica 나노입자가 폐에 일차적으로 집적되는 것으로 나타났다. 따라서 Ag-PANI-silica 나노입자는 폐를 영상화하거나 폐에



(A)



(B)

Fig. 5. Micro-SPECT/CT images of ^{125}I-Ag-PANI-silica nanoparticle in the ICR mouse at 30 min (A) and 20 hr (B) after injection.

약물전달체로서 활용이 가능할 것으로 평가되었다. 또한 Ag-PANI-silica나노입자의 표면에 표적지향형 리간드 수식하여 표적지향형 나노입자개발시 필요한 체내 분포의 변화를 비교평가할 수 있는 기초영상자료를 확보한 것으로 사료된다.

결 론

본 연구에서는 Ag-PANI-Silica 나노입자의 방사성 동위원소 흡착능 및 누출율 그리고 체내영상 평가를 통하

여 방사성 동위원소 운반체로 적용 가능성을 확인하였다. Ag-PANI-Silica 나노입자는 ^{125}I 용액에서 6시간 이상 정치시 98% 이상의 방사성 요오드를 흡착하는 능력이 있고 이렇게 흡착된 ^{125}I는 48시간까지 78% 이상 유지되어 방사성 요오드 운반체로서 활용 가능성을 확인할 수 있었다. 나아가 ^{125}I-Ag-PANI-Silica 나노입자의 마우스 영상연구를 통해 폐 영상 프로브로 활용 가능함을 밝혔다.

사 사

이 연구는 교육과학기술부에서 시행하는 방사선기술개발사업의 지원으로 수행되었습니다.

참 고 문 헌

김수남, 노진규, 강민성, 한영아, 이병석, 김영훈, 박광식, 최경희, 박은정. 2010. 은나노 입자의 크기 및 형태에 따른 체내 동태 및 염증 반응. 환경보건독성학회지. **25**(3):215-222.

Allen TM and Cullis PR. 2004. Drug deliverty systems entering the mainstream. *Science* **303**:1818-1822.

Badjic JD, Balzani V, Credi A, Silvi S and Stoddart JF. 2004. A molecular elevator. *Science* **303**:1845-1849.

Barth JV, Constanitini G and Kern K. 2005. Engineering atomic and molecular nanostructure at surface. *Nature* **437**:671-679.

Bruchez M, Moronne M, Gin P, Weiss S and Alivisatos AP. 1998. Semi-conductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science* **281**:2013-2016.

Cui Y and Lieber CM. 2001. Functional nanoscale electornic devices assembled using silicon nanowire building blocks. *Science* **291**:851-853.

Jin R, Cao Y, Mirkin CA, Kelly KL, Schatz GC and Zheng JG. 2001. Photoinduced conversion of silver nanoprisms. *Science* **294**:1901-1903.

Kang EA, Kim KM and Kwon IC. 2009. Multifunctional nanoparticles for molecular imaging. *J. Korean Med. Assoc.* **52**: 125-134.

Kaul G and Amiji M. 2002. Long-circulating poly(ethylene glycol)-modified gelatin nanoparticles for intracellular delivery. *Pharm. Res.* **19**:1061-1067.

Kim HJ, Park SH and Park HJ. 2010. Synthesis of a new electrically conducting nanosized Ag-polyaniline-silica complex using γ-radiolysis and its biosensing application. *Radiat. Physics and Chem.* **79**:894-899.

Maeda H, Wu J, Sawa T, Matsumura Y and Hori K. 2000. Tumor vascular permeability and EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. *J. Control Release* **65**:271-284.

Milliron DJ, Hughes SM, Cui Y, Manna L, Li J, Wang LW and Alvisato SPl. 2004. Colloidal nanocrystal heterostructures with linear and branched topology. *Nature* **430**:190-195.

Mirkin CA, Letsinger RL, Mucic RC and Storhoff JJ. 1996. A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials. *Nature* **382**:607-609.

Ouyang M, Huang KL, Cheung CL and Lieber CM. 2001. Energy gaps in metallic single-walled carbon nanotubes. *Science* **292**:702-705.

Rosi NL, Giljohann DA, Thaxton S, Lytton-Jean AKR, Han MS and Mirkin CA. 2006. Oligonuclide-modified gold nanoparticles for intracellular gene regulation. *Science* **312**:1027-1030.

Sanvinces N and Marco MP. 2008. Multifuctional nanoparticles-properties and prospects for their use in human medicine. *Trends Biotechnol.* **26**:425-433.

Tochilin VP. 2006. Multifunctional nanocarriers. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **58**:1532-1555.

Yin Y and Alivisatos AP. 2005. Colloidal nanocrystal synthesis and the organic-inorganic interface. *Nature* **437**:664-670.

Manuscript Received: July 1, 2011
Revised: July 8, 2011
Revision Accepted: July 12, 2011