

광역동치료에서 약물전달기술을 이용한 광활성제 전달

연세대학교 의과대학 내과학교실

박 승 우

Delivery of Photosensitizers for Photodynamic Therapy

Seungwoo Park, M.D.

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Photodynamic therapy (PDT) has been used to treat several types of cancer, and comprises intravascular administration of photosensitizer, uptake by cancer cells, and followed by irradiation of light of appropriate wavelength. Although PDT takes advantage of relative retention of photosensitizer by cancer cells, effective delivery of photosensitizing drugs is of great concern. Several delivery strategies have been employed in PDT. Photosensitizers can be delivered either by passive carriers such as liposomes, micelles, and polymeric particles, or by active targeting using cancer cell-directed ligands or antibodies. Although well-studied colloidal carriers effectively deliver photosensitizer to tumor cells, they are taken up by mononuclear phagocytic system. Delivery system using polymers is an attractive alternative to colloidal carriers, in which hydrophobic drugs are chemically or physically loaded to polymers. Though there are several steps to be solved, targeted delivery system utilizing receptors or antigens abundantly expressed on cancer cell theoretically provides a great deal of advantages over passive system. Selective uptake of photosensitizers by cancer cells may greatly enhance therapeutic efficacy as well as minimizing adverse effects resulting from accumulation in normal tissue. This review discusses various strategies for photosensitizer delivery that have been investigated to date. (**Korean J Gastroenterol 2007;49: 300-313**)

Key Words: Photodynamic therapy; Photosensitizer; Drug delivery

서 론

특정 파장의 빛에 의하여 활성화되는 광활성제를 투여하여 암조직에 축적을 유도한 다음 레이저를 조사함으로써 선택적으로 암조직을 파괴하는 광역동치료(photodynamic therapy, PDT)의 효과는 이미 수백년 전에 인식이 되었으나 체계적인 개발을 통하여 임상에서 이용하기 시작한 것은 최근의 일이다. 광역동치료를 개발한 동기는 악성질환의 치료였

지만, 일차적으로 건선, 망막변성과 같은 양성질환에서 성공적인 치료효과를 거두면서 보다 활발하게 이용하고 있다. 악성질환에서는 폐암과 식도암에서 공인된 치료법으로 승인되었고, 담관암, 자궁경부암, 비뇨기암, 피부암 등과 같은 다양한 암질환에서 이용되고 있으나, 근치적인 치료효과를 얻을 수 있는 예가 제한되어 있어 광범위하게 이용하지는 못하고 있다.

정맥 또는 국소도포를 통한 광활성제 투여와 암조직으로

연락처: 박승우, 120-752, 서울시 서대문구 신촌동 134
연세대학교 의과대학 내과학교실
Tel: (02) 2228-1964, Fax: (02) 393-6884
E-mail: swoopark@yumc.yonsei.ac.kr

Correspondence to: Seungwoo Park, M.D.
Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, 134, Sinchon-dong, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea
Tel: + 82-2-2228-1964, Fax: + 82-2-393-6884
E-mail: swoopark@yumc.yonsei.ac.kr

의 선택적인 흡수는 광역동치료의 핵심적 요소임에도 불구하고 광역동치료의 태생단계에서부터 광활성제의 체내분포나 종양 내 흡수를 결정하는 요인에 대해서는 심화된 연구의 부재로 자세하게 규명되지 않았다. 광활성제 중에서 photofrin과 같은 친수성 물질은 직접적으로 정맥 주입이 가능하나, 상대적으로 활성도가 큰 물질의 대부분은 소수성이어서 정맥 주입을 할 수 없기 때문에 전달을 위한 매개체가 필요하다.

효율적인 전달매개체를 이용하여 광활성제를 투여함으로써 종양으로의 축적은 강화하고 정상조직으로의 흡수는 감소시키는 전략은 치료 효과의 극대화는 물론 정상 조직에서의 활성화에 따른 부작용을 감소시키는 데에 목적이 있다. 나노소자(nanoparticle), 리포솜(liposome), 저밀도지단백(low-density lipoprotein, LDL), 미셀(micelle) 등과 같은 전달체들이 실험실 수준과 전임상 및 임상영역에서 활발하게 연구되고 있다. 나아가서 보다 선택적인 종양 내 축적을 유도하기 위하여 항체를 결합시킨 능동적인 표적지향 전달체의 개발도 활발하게 연구되고 있다. 이러한 전달체 개발은 2000년대 이후 급속하게 발전하고 있는 생명공학, 생명정보학, 나노공학의 이론과 기술 발전에 뿌리를 두고 있으며, 과학 기술을 접목한 융합기술은 질병 치료의 개념을 근본적으로 전환하는 계기를 마련하고 있다. 유전체, 단백질 연구 등에서 얻어진 생명과학 정보는 암발생과 진행에 관하여 분자 및 세포 수준에서의 생물학적인 기전에 대한 이해를 심화함은 물론, 선택적인 암 치료를 위한 표적분자의 발굴에도 이용되고 있다. 발굴된 표적분자는 표적지향 치료 항체 개발을 통한 항암제 개발에 직접 이용되기도 하고, 각종 나노 분자와 결합된 형태로 개발되어 암 진단과 표적지향 약물전달에 이용하기도 한다. 많은 연구가 아직 실험실 수준에 머물러 있기는 하지만 전임상 또는 임상 연구에 돌입하여 가시적인 성과를 보이기도 하며, 향후 수년 이내에 나노기술을 이용한 보다 효과적인 약물전달법이 개발되리라 예측하며, 광활성제도 예외는 아닐 것이다. 이번 글에서는 약물전달기술을 이용한 광활성제 전달체 개발의 현 주소와 함께 앞으로 광역동치료법이 발전되어 갈 방향을 예측하고자 한다.

광역동치료의 역사

기본적으로 빛을 이용하는 광치료의 기원은 수천년 전으로 거슬러 올라가는데, 고대 이집트와 동양 사회, 그리고 그리스에서는 여러 질병의 치료에 흔히 빛을 이용하였다.^{1,2}

고대 문명사회에서 빛을 질병 치료에 이용한 배경에는 태양을 숭배하던 종교 관습이 무관하지 않다. 물론 당시에는 광활성제에 대한 개념은 없었고 단순히 양지바른 곳에 환자를 두어 빛을 쬐이는 방식의 치료가 이용되었다. 인도 문명

에서는 자외선에 의해 활성화되는 식물성 물질인 psoralen을 피부에 바른 뒤 빛을 조사하는 선구적인 광치료가 다양한 피부질환의 치료에 이용되었고 이 개념은 현대 의학에서 재조명된 뒤 건선 등과 같은 피부질환 치료에 이용되고 있다.³ 고대의 광치료는 기본적으로 산소에 대한 의존성이 없다는 점이 광역동치료와 근본적으로 다른 점이다.

1800년대 광치료는 천연두와 결핵의 치료에 아크램프를 이용하여 광과장의 강한 빛을 조사한 Finsen의 업적이 대표적인 예이다. 당시에 Finsen의 광치료는 전 세계적인 명성을 얻었고 많은 병원에서 유사한 치료법을 도입하게 되었다.⁴ 1800년대 이루어진 다른 업적의 하나는 hematoporphyrin의 발견이다. 철 성분을 제거한 혈액이 보라색을 띤다는 사실을 인식하고 이를 hematoporphyrin이라 명명하였는데 여기에 빛을 조사하면 발광을 한다는 사실까지 인식하여 형광물질의 발견이 이루어졌으나 이에 대한 중요성은 인지하지 못하였다.

1903년에 Finsen의 업적이 인정되어 노벨상을 받아 더욱 명성을 얻게 되었는데, 비슷한 시기에 Raab, Jesionek, Von Tappeiner 등은 유산소 조건에서 광활성물질에 빛을 조사하면 세포가 파괴된다는 사실을 발견함으로써 광역동효과라는 신조어가 만들어졌다.⁵ 간질 환자에 투여한 eosin에 의하여 빛에 노출된 피부에 발생한 발진으로부터 태양광 반응을 발견하였는데, von Tappeiner와 Jesionek은 피부에 eosin을 도포한 뒤 강력한 빛을 조사하여 기저세포암을 치료함으로써 암질환에서 진정한 의미의 광역동치료의 개막을 알렸다.⁵ 불행하게도 이러한 발견은 광범위한 인지를 얻지 못하고 소수의 임상외에 의해서만 시술이 이루어지는 데 그침으로써 광역동치료의 발전은 더딘 걸음을 할 수밖에 없었다.

현대적인 개념의 광역동치료가 발전한 것은 새로운 광활성제 발견, 광원 개발과 더불어 광역동치료의 분자 생물학적인 효과가 탐구되면서부터 시작되었다. 1960년대에 Lipson과 Baldes는 porphyrin 혼합물이 투여된 종양조직이 자외선 조사를 받으면 형광을 발산한다는 사실을 보고하였고 이후 Schwartz가 제조한 포르피린(porphyrin) 혼합물은 헤마토프로피린 유도체(hematoporphyrin derivative, HpD)라 이름 지어졌으며 단순한 헤마토프로피린에 비하여 종양에 대한 친화성이 높고 광독성이 강하다는 사실을 발견하였다.⁶ 광독성이 인지된 이후로 HpD의 치료효과를 규명하기 위한 전임상과 임상 시험이 1970년대에 진행되었다.^{7,8} 1980년대에 photofrin을 이용한 광역동치료의 초기 임상 연구가 다양한 암질환에서 진행되었고 현대의 광역동치료가 태동하는 초석이 되었다. 광조사를 위한 레이저와 기구도 개발되어 일정한 파장의 빛을 일정한 양만큼 투여할 수 있는 표준적인 방법이 개발되었고, 1990년대에 식도암과 폐암에서 photofrin을 이용한 광역동치료가 FDA의 승인을 얻게 되었다.

광활성제

광역동치료에 사용되는 광활성제의 대부분은 헤모글로빈의 클로로필이나 헴과 유사한 헤테로 고리(heterocyclic ring) 구조를 가지고 있다. 광활성제는 흡수한 빛 에너지를 화학 반응을 거쳐 산소에 전달함으로써 singlet oxygen (1O_2) 또는 superoxide (O_2^-)를 생산하여 직간접적인 세포 독성을 유발한다. 따라서 광활성제는 광역동치료의 핵심적인 요소인데 대부분은 80년대와 90년대에 개발되었고 지금도 새로운 광활성제의 개발이 진행되고 있다. 광활성제는 화학 구조에 따라 크게 3가지 계열로 구분한다. 첫째는 포르피린 계열의 광활성제로 photofrin, aminolevulinic Acid (ALA)/PpIX, benzoporphyrin derivative monoacid ring A (BPD-MA) 등이 이에 속하고, 둘째는 클로로필 계열로 chlorin, purpurin, bacteriochlorin 등이 이에 속하며, 셋째는 염료로 phthalocyanine, naphthalocyanine 등이 이에 속한다. 임상 승인이 된 대부분의 광활성제는 포르피린 계열에 속하는데 70년대 말과 80년대 초반에 처음 개발되어 1세대라 불리며 photofrin이 대표적이다. 1980년대 후반에 개발된 포르피린 계열의 ALA는 2세대라 불리며, 항체나 리포솜 등과 결합하여 제형 변경을 가져온 광활성제는 3세대라 불린다. 이러한 세대별 구분은 다분히 작위적이고 모호한 경향이 있으며 새로운 세대의 광활성제가 구세대 광활성제에 비하여 임상적으로 뛰어난 효과를 보인다는 결론은 얻어지지 않았다.⁹

이상적인 광활성제에 대해서 화학자와 임상가의 의견을 달리하지만 일치하는 견해는 다음과 같다.^{9,10} 첫째, 암독성(dark toxicity)이 낮고 알레르기와의 같은 이상 반응이 적어야 하며, 둘째, 조직 침투성이 좋은 적색영역의 장파장 빛을 흡수하여야 한다. 600-800 nm 영역의 빛을 흡수하는 광활성제가 이상적인데 600 nm 이하의 빛은 조직 투과도가 낮아 치료효과가 작으며 피부의 광민감화 반응을 유발하기가 쉽고, 800 nm 이상의 장파장 빛을 흡수하는 경우에는 활성화된 triplet 상태의 광활성제가 기저상태의 산소 분자를 활성화하여 singlet 상태로 전환시킬 정도로 충분한 에너지를 갖지 못한다. 셋째, 투여하는 광활성제 양을 최소화하기 위해서는 광활성제가 높은 광흡수율($20,000-30,000 M^{-1}cm^{-1}$ 이상)을 가져야 한다. 넷째, 제조 공법이 단순하여 대량의 광활성제를 순수하게 생산할 수 있어야 한다. 다섯째, 저장 수명이 충분히 길어야 하며, 여섯째, 친수성이거나 그렇지 않으면 적어도 인체에 무해한 용매에 쉽게 용해되어야 한다. 일곱째, 생체 내에서 응집되지 않아야 하며, 여덟째, 불필요한 광민감화 반응을 피하기 위하여 체내에서 신속하게 대사되어 제거되어야 한다. 아홉째, 투여 후 신속하게 종양 세포 내로 흡수됨으로써 주입과 조사 사이의 간격이 짧아야 바람직하는데 이는 외래 치료를 가능케 함으로써 비용절감효과를

유발하기 때문이다. 마지막으로 치료 후 생체 내 형광이나 탈형광을 측정함으로써 체내에 남아 있는 양을 모니터링할 수 있는 방법이 내재된 광활성제가 바람직하다.

광활성제가 효과를 나타내기 위해서는 암 또는 조직의 세포에 흡수되어야 한다. 세포 내로 유입된 광활성제는 세포 내 소기관에 분포하는데 빛에 의해 발생된 반응성활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 반감기가 극히 짧아 이동 거리에 제한을 받으므로 광활성제 분포에 따라 손상을 받는 세포 내 소기관이 결정된다. 따라서 세포독성의 기전 역시 광활성제의 세포 내 분포 기전에 따라 좌우된다. 공초점(confocal) 형광현미경은 민감도와 공간해상력이 높기 때문에 광활성제의 세포 내 분포 연구에 흔히 이용되며, 세포 내 소기관 특이 탐색물질을 함께 투여한 뒤 분석하면 보다 정확하게 분포 양상을 확인할 수 있다.¹¹ 배양된 세포에서 다양한 광활성제의 분포는 이미 연구되어 있는데 분포양상을 결정하는 요인으로는 광활성제의 이온전하, 소수성 정도, 분자의 비대칭성 정도 등이다. 소수성이며 2가 이하의 음전하를 가지는 광활성제는 세포막을 통하여 쉽게 확산되어 세포 내의 막성 구조물에 고농도로 분포한다. 소수성이고 2가 이상의 음전하를 가지는 광활성제는 세포막을 통과하지 못하기 때문에 엔도사이토시스에 의해 흡수된다.

리소솜은 광역동치료 효과의 기전을 연구하던 초기 단계에서는 중요한 세포 내 목표물로 인지되었으나, 이후의 연구에서 미토콘드리아나 다른 소기관에 비하여 세포독성 효과가 상대적으로 적다는 사실이 확인되었다.^{12,13} 이를 설명하는 주 이유는 광활성제가 리소솜 내에서는 응집되는 경향을 보인다는 점이다. 주로 2가 이상의 음전하를 가지는 광활성제는 엔도사이토시스에 의해 흡수되어 리소솜에 분포하는데 chlorin계 광활성제, ATX-S10 (Na), aluminum phthalocyanine disulfonate (AIPCS₂) 등이 이에 속한다.^{14,15} 세포 수용체 특이적인 방법으로 광활성제를 전달하는 경우에도 엔도사이토시스에 의해 유입된 광활성제-리간드-수용체 복합체는 엔도솜-리소솜 경로를 통하여 리소솜에 주로 분포한다.

미토콘드리아는 대부분 광활성제의 주요 목표물이 되는데,¹⁶ 많은 광활성제가 미토콘드리아에 흡수된 뒤 활성화되어 손상을 유발함으로써 미토콘드리아에서 유리되는 전세포자멸사(preapoptotic) 단백에 의해 세포자멸사(apoptosis)가 촉발되기 때문이다. 벤조포르피린유도체는 미토콘드리아에 축적되는 대표적인 광활성제로 알려져 있으나, 세포의 유형과 제형에 따라 달라지기도 한다.¹⁷ 양전하를 가진 리포솜 전달체를 이용하는 경우에는 대부분 미토콘드리아에 분포하지만 유리 상태의 벤조포르피린유도체는 핵 주변에 위치한다.^{17,18} 미토콘드리아의 막전위와 이중 지질막 구조에 따른 물리화학적 특성에 의하여 일반적으로 양전하를 가진 소수성의 광활성제가 미토콘드리아에 분포하는 경향을 보인다.

다.¹⁹ 특히 암세포는 정상세포에 비하여 미토콘드리아에 고농도로 광활성제가 축적되는 경향을 보이는데 이는 정상세포의 손상은 피하면서 선택적으로 암세포를 파괴할 수 있는 장점이 된다.

세포막에 분포하는 광활성제는 흔하지 않은데, deuteroporphyrin IX가 대표적인 예다.²⁰ 실험실에서 세포주에 투여하면 세포막에 선택적으로 분포한 뒤 24시간 이상 지나면 골지체에도 분포한다. FDA 승인을 받은 photofrin도 세포막에 분포하는데 광역동치료 시 7 ug/ml 이하의 농도에서는 세포의 성장이 억제되고 28 ug/ml 이상의 농도에서는 세포막의 파괴와 이로 인한 세포의 부종이 관찰된다. 하지만 세포막에서 phosphatidylserine으로부터 활성화되는 전형적인 세포자멸사의 소견은 관찰되지 않는다.

골지체와 소포체에 주로 분포하는 광활성제에는 foscan이 있다. MCF-7 선암세포주에 foscan을 처리한 뒤 공초점 현미경으로 관찰하면 대부분이 골지체와 소포체에 흡수되고 소량이 리소좀과 미토콘드리아에 분포한다.²¹

광역동치료에 의한 종양의 파괴는 세 가지 기전에 의하는데, 첫째, 광활성제로부터 발생하는 반응성산소종에 의하여 세포의 사멸 또는 괴사 반응이고, 둘째, 종양 혈관의 손상때 따른 저산소증과 영양 결핍에 따른 종양의 괴사이며, 셋째, 광역동치료에 의하여 유발되는 종양세포에 대한 면역 반응이다. 이들 각 기전에 대한 자세한 고찰은 이번 글에서는 논외로 하고자 한다.

약물전달기술을 이용한 광활성제 전달

선택적으로 종양세포에 광활성제를 전달할 수 있는 기술의 개발은 치료 효과를 극대화함은 물론 원치 않는 부작용을 피할 수 있다는 측면에서 커다란 매력을 지닌다. 현재까지 알려진 광활성제의 약동학, 약력학적인 지식과 나노과학 분야에서 이루어진 진보를 바탕으로 한 나노소재의 접목을 이용한 약물전달기술은 그러한 의미에서 하나의 돌파구로 인식된다. 이미 다양한 항암약물, 항암효과를 지닌 단백질, 치료용 유전자의 전달을 위한 나노 기술이 개발되었고 나노 약물전달기술을 이용한 항암제 전달기술에 근거하여 많은 약물들이 개발되어 임상에 응용되고 있거나 임상/전임상 시험을 기다리고 있다. 이번 글에서는 광활성제 전달에 대하여 논하고자 한다.

암조직의 생물학적인 소인에 의하여 투여된 약물이 정상 조직에 비하여 상대적으로 고농도로 분포하는 특성을 이용하는 수동 약물전달(passive targeting)과 항원-항체 또는 리간드-수용체를 이용하여 고도의 선택성을 통한 표적지향성을 이용하는 능동 약물전달(active targeting)으로 구분한다. 수동 약물 축적은 확산이나 삼식작용과 같은 자연적인 약물

분포양상에 의한 표적지향으로서 리포좀, 지성 전달체, 생분해 고분자소자(biodegradable polymeric particles)와 소수 고분자-광활성제 결합체, 고분자 미셀 등이 이에 속한다.²² 광활성제가 탑재된 이들 전달체를 투여하면 선택적으로 암세포 또는 신생혈관에 축적이 되는데, 이는 EPR (enhanced permeability and retention) 효과에 의한 현상이다.^{23,24} 즉, 암 조직에 발달한 혈관의 내피세포는 장벽이 성숙하지 못하여 때문에 혈관을 통한 약물의 유출이 증가하고, 림프계의 폐쇄 또는 미발달로 인하여 약물이 종양조직에 정체되었다가 확산에 의하여 암세포로 광활성제가 유입된다. 실험에 의하면 암조직 내피세포의 투과성 증가는 종양에서 분비되는 인자나 염증반응 때문으로 보인다. 내피세포의 물리적인 분리에 의해 틈이 발생하고 틈을 통해 거대 소자의 혈관 외 유출이 증가한다. 더구나, 종양조직에서는 입과선이 제대로 발달되지 않기 때문에 혈관 외로 유출된 광활성제가 지속적으로 머물면서 암세포에 고농도로 농축된다.

표적지향성을 가지는 생물분자와 광활성제를 결합시킴으로써 고도의 표적지향성을 가지도록 하여 선택적으로 종양 세포에 전달하는 방법은 부작용은 줄이면서 광역동치료 효과를 극대화할 수 있는 이상적인 전략이다. 이용하는 표적지향성 분자에 따라, 암세포 표면의 항원을 이용하는 항체-매개형과 수용체에 대한 리간드를 이용하는 수용체-매개형으로 구분한다. 표적지향 약물전달 효과를 결정하는 요인은 혈류 내에서 표적지향 전달체의 안정성, 모세혈관이나 간질 조직과 같은 암세포에 이르기 위해 통과해야 하는 물리적인 장벽, 전달체의 독성 등이 있다.

1. 리포좀(Liposomes)

리포좀은 인지질로 구성된 이중 또는 단층의 층상구조를 가진 소포로 지용성, 수용성 약물을 모두 머금을 수 있는 특성을 지닌다. 주성분이 되는 인지질과 콜레스테롤이 모두 인체에 다량으로 존재하기 때문에 생체 친화성이 뛰어나다.

콜레스테롤은 이중막 구조를 견고하게 함으로써 탑재된 약물의 투과성을 줄이고 체내에서 리포좀의 안정성을 향상시키는 역할을 한다.²⁵ 리포좀 제제와 유리형 광활성제의 광역동치료 효과를 비교한 실험실 및 임상 연구에 따르면 일관성 있게 리포좀 제제가 유리형보다 효과적인 전달방법으로 인정되고 있다.²⁶ 광활성제 헤마토포르피린을 리포좀 dipalmitoylphosphatidyl-choline (DPPC)에 탑재한 제제와 PBS에 용해시킨 제제를 비교한 연구에서, 종양조직에 광활성제가 축적되는 속도는 느리나 최대 농도는 리포좀 전달체의 경우에 더 높았다.²⁷ BPD-MA의 경우에도 리포좀 전달체를 사용한 경우에 고농도의 종양 내 축적을 가져올 수 있었으며, 백서모델에서 시행한 광역동치료에서도 리포좀 전달체를 사용한 경우에 더 효과적이었다.²⁸

소수성 광활성제는 액상 매체 내에서 응집되는 경향을 보이는데 응집된 광활성제는 효과적인 광민감화 반응을 유발하지 못하기 때문에 단량체 상태를 유지해야 하는 점이 매우 중요한데,²⁹ 리포솜에 탑재하면 광활성제 응집을 줄이는데 유리하다. 광활성제의 단량체 비율을 달리하여 ZnPc (zinc phthalocyanine)을 리포솜에 탑재하여 투여하면 단량체 비율이 증가함에 따라 종양 내 축적도 증가하는 반면에, 응집된 광활성제의 대부분은 대식세포에 의해 탐식되어 소실된다.³⁰

리포솜 전달체의 효과를 결정하는 주요 요인 중의 하나는 약역학으로 리포솜의 혈중 반감기가 분단위로 매우 짧은다는 점이다.³¹ 혈중에서 지단백은 광활성제를 종양 내로 전달하는 중요한 운반체로 알려져 있다.³² 리포솜과 고밀도지단백 사이에 지방 교환이 일어나면 막이 불안정화되면서 리포솜이 파괴되며, 광활성제는 혈중으로 방출된 뒤에 지단백이나 다른 혈중 단백질과 결합한 뒤 종양으로 전달된다. 한편 파괴되지 않은 리포솜은 혈중 단백질에 의하여 흡수되어 단핵 식세포계에 탐식된 뒤 간, 비장, 골수 등에 고농도로 축적된다.³³ 가령, 리포솜으로 전달되는 Zn (II) phthalocyanine과 Sn (IV) naphthalocyanine은 주로 혈중 지단백을 경유하여 전달이 된다.³⁴ 따라서, 리포솜 전달체를 이용한 전달 시 광활성제의 약역학은 주입 직후에는 전달체의 혈중 분포에 좌우되다가 이후부터는 혈중 지단백 농도에 따라 좌우된다. 대부분의 암세포에서는 빠른 증식을 위하여 세포막 LDL 수용체의 발현이 증가되고 콜레스테롤 요구량이 늘어나므로, 혈중에서 LDL과 결합한 광활성제는 수용체를 매개로 하는 엔도사이토시스에 의해 암세포로 쉽게 흡수된다.³⁵

이러한 맥락에서, 광활성제와 지단백의 결합은 파괴되는 리포솜으로부터 점진적으로 유리되는 광활성제의 양에 따라 결정되기 때문에 유리형의 광활성제를 주입한 경우와는 사뭇 다른 양상을 보인다. 리포솜 광활성제는 주로 HDL, LDL, VLDL과 결합하지만, 응집되는 경향이 있는 유리형의 광활성제는 혈중 알부민과 HDL에 주로 분포하는데,²⁸ 혈중 단백질에 분포하는 양상에 따라 광역동치료의 효과는 크게 달라질 수 있다. BPD-MA를 리포솜 전달체를 이용하거나 유리형으로 투여하였을 때, 종양 내 축적되는 양은 리포솜에서 근소하게 증가되는 정도이나 치료 효과는 현저한 차이를 보이는 점이 이를 뒷받침한다. 즉, 리포솜 광활성제가 광역동치료 효과를 극대화할 수 있는 위치에 광활성제를 전달할 것으로 추정한다.

리포솜은 맥락막 신생혈관 질환에서 광역동치료에 이용되는 BPD-MA의 전달체로 임상에 이용되고 있으며, 최근에 망막변성 질환의 광역동치료를 위한 광활성제로 리포솜 탑재형 BPD-MA (Visudyne, QLT, Canada)가 승인되었다.³⁶

2. Oil-based

소수성의 광활성제를 용해시키기 위한 방법에는 비이온 poloxyethylated caster oil인 cremophor-EL (CRM)을 이용하는 대안이 있으며, 이는 정맥주사용제로 사용된다. Selman 등³⁷이 처음으로 CRM에 용해시킨 purpurin을 이용하여 방광암 이식 쥐 모델에서 광역동치료를 시행하여 HpD보다 우수한 효과를 얻었다. 광활성제의 전달체로 CRM과 리포솜을 비교한 연구에서, 고용량의 etiopurpurin을 광활성제로 사용했을 때에는 동일한 효과를 보였으나 저용량에서는 CRM이 우수한 효과를 보였다.³⁸ 광활성제 bis-methoxyethyleneoxy silicon-phthalocyanine을 사용하였을 때, 조직에 축적되는 광활성제의 농도는 리포솜보다 CRM이 두 배 높았으나 치료 효과는 동일하였다.³⁹ Kessel 등⁴⁰은 CRM, gamma-cyclodextrin (γ -CD), molocusol (MOL)을 비교하였는데, 암세포의 광손상은 CRM에 의해 가장 효과적으로 유발되었다. 정맥투여 후 LDL과 결합하는 광활성제의 양은 CRM, γ -CD, DPPC 리포솜 전달용제의 순으로 측정되었고 CRM에 분산되어 있는 광활성제가 암조직으로 전달되는 과정에서 지단백의 매개를 필요로 하였다.

실험실 연구에 의하면 CRM을 사용하여 소수성 광활성제를 전달하는 방법은 매우 효과적이기는 하나 드물게 발생하는 아나필락시스 반응이 단점으로 지적된다.⁴¹ 아나필락시스는 CRM 자체에 의한 것으로 보이며 용량과 주입속도에 비례하여 발생한다. 현 단계에서 CRM에 의한 아나필락시스를 완전히 억제하는 어려우나 항히스타민이나 스테로이드 전처치로 완화시킬 수는 있다.

3. 고분자 소자(polymeric particles)

리포솜의 대체제로 각광받는 생분해 고분자소자는 다양한 항암제의 전달체로써 각광을 받고 있다. 고분자소자가 가지는 장점은 다량의 약물탑재가 가능하다는 점과 약물유리를 조절할 수 있다는 점, 그리고 무궁무진한 소재의 다양성과 제조 공정에 있다.⁴² 광역동치료 영역에서는 상대적으로 나노소자를 이용한 연구가 미진하다.

몇몇 연구에서는 hematoporphyrin, phthalocyanine, 또는 meso-tetra-hydroxyphenylchlorin (m-THPC)를 탑재한 생분해 나노소자를 이용하여 고무적인 결과를 보고하였다. Labib 등은⁴² tetrasulfonated zinc phthalocyanine (ZnPcS4) 또는 aluminum naphthalocyanine을 polyisobutylcyanoacrylate (PIBCA) 또는 polyethylbutylcyanoacrylate (PEBCA)에 탑재하여 세포주에서 실험하였는데 나노캡슐화로 인하여 세포내 흡수가 증가되면서 광독성 효과가 증가하여 유리상태의 광활성제보다 효과적이었다. FDA 승인을 얻은 고분자중합체인 poly D, L-lactic acid (PLA)에 광활성제를 탑재한 PLA 나노

소자와 CRM 제제를 비교한 백서실험에서 나노소자는 100% 종양의 소실을 유발하였으나 CRM 제제는 60%의 소실 효과를 보였다.⁴³

1,000 nm보다 큰 폴리머 소자는 친수성 광활성제의 전달체로 연구가 되었다. Chlorin e₆가 결합한 폴리스티렌 (Ce₆-MS) 마이크로구체(microsphere)는 유리형 Ce₆보다 강력한 광독성 효과를 보였다.^{44,45} 방광암 세포주에서 분석하면 Ce₆-MS는 유리형보다 20배 이상 효율적으로 세포 내로 유입되고 10배 이상의 광독성을 보였다. 세포 내 위치도 달라지는데 Ce₆-MS는 탐식작용에 의해 유입되어 세포질 내 소기관에 주로 분포하는 데 반하여 유리형 Ce₆는 주로 세포막에 분포한다. 폴리스티렌(polystyrene)은 생체 내에서 분해가 되지 않기 때문에 임상 적용하기 어렵다는 점이 문제로 지적된다.

광활성제는 친수성 폴리머와 배위결합을 통하여 직접 결합시키면 친수성을 증가시킴으로써 지용성 전달체에 의존하지 않고도 정맥투여가 가능한데, 이 경우에는 혈중 반감기가 길고, 암선택성이 높으며 광역동치료 효과가 우수하다는 장점이 있다. 폴리머 N-2-hydroxypropyl methacrylamide (HPMA) 결합형 mesochlorin monoethylenediamine (CMA)는 고농도로 종양 내에 축적됨으로써 유리형에 비하여 100배 이상의 광독성을 보인다.⁴⁶ Polyethylene glycol (PEG) 또는 polyvinyl alcohol (PVAL)과 배위결합으로 연결된 AICIPc와 CRM에 유화시킨 AICIPc를 비교한 약역학 실험에서 AICIPc-PVAL이 가장 긴 혈중반감기와 높은 종양 내 축적을 보였고, 비장, 간, 폐 축적은 가장 낮았으며, 종양/피부, 종양/근육 축적비는 가장 우수하였다.⁴⁷ PEG와 m-THPC 결합체는 유리형 m-THPC와 유사한 효과를 나타냈다.⁴⁸ 한편 PEG-silicon naphthalocyanine은 오히려 종양 선택성이 감소하면서 광역동치료 효과가 사라지는 결과를 보였는데 이는 광활성제에 따라 결합하는 PEG의 사슬 길이가 다르기 때문으로 사슬 길이의 차이는 약역학적인 특성에 큰 영향을 줄 수 있기 때문이다.⁴⁹

4. 고분자 미셀(polymeric micelle)

고분자 미셀은 액상 용액 내에서 소수성과 친수성을 동시에 가지는 블록공중합체(amphiphilic block copolymer, ABC)로부터 만들어진다. ABC의 소수성 분절은 미셀의 중심핵을 형성하고 친수성 분절은 바깥 부분인 코로나를 형성한다. 고분자 미셀은 소수성 핵 부위에 소수성 약물을 물리적으로 담거나 화학적으로 결합하여 탑재함으로써 소수성 약물을 전달하는 용도로 이용되었다. 약물을 전달하는 목적에 따라 중심 핵은 다양한 조성을 가질 수 있는데 polyester,⁵⁰ poly (amino acids),⁵¹ poly (meth) acrylates,⁵² poly (acrylamides)⁵² 등이 대표적인 예다. 반면에 바깥 층의 친수성 부위인 코로

나는 대부분 PEG로 구성되는데 이는 PEG가 생체적합성이 뛰어나서 생체단백이나 세포와 불필요한 상호작용을 하지 않기 때문이다.

고분자 미셀이 효과적인 약물전달체로 기대되는 데에는 몇 가지 이유가 있다. 첫째, 고분자 미셀은 소수성 약물을 용해하는 전달체로서 저분자 계면활성제에 비하여 안정성이 매우 크다. Critical micelle concentration (CMC)는 미셀의 안정성을 나타내는 수치로 고분자 미셀은 대체로 매우 낮은 CMC를 가지므로 안정적이어서 희석이 되어도 미셀 구조를 지속적으로 유지할 수 있음을 뜻한다.^{53,54} 둘째, 고분자 미셀은 리포솜에 비하여 작고 일정한 크기를 가진다는 장점이 있다. 약물이 탑재되지 않은 미셀은 10 nm 단위까지 내려갈 수 있는데 이 크기는 EPR 효과를 유지할 수 있는 수준이다. 셋째, 친수성 표면은 혈중에서 단백질이나 대식세포와의 상호작용을 억제하는 효과가 있어 탐식작용을 최대한 억제함으로써 장기간 혈중을 순환할 수 있다. 마지막으로 표면에 항체나 리간드를 부착함으로써 표적지향 약물전달체로 제작할 수 있다는 장점이 있다.

Pluronic (poloxamers)는 polyethylene oxide와 polypropylene oxide로 구성되어 있으며 상용화된 친수성의 삼중 블록공중합체다. Pluronic를 이용하여 벤조포르피린 유도체를 탑재한 전달체는 개발되어 실험실 수준에서 약역학적인 연구는 진행되었으나⁵⁵ 광역동치료에 이용한 *in vitro* 또는 *in vivo* 자료는 아직 없다. Methoxy PEG와 distearoylphosphatidylethanolamine (DSPE)를 공유결합으로 연결한 mPEG-DSPE에 벤조포르피린 A 및 B 이성체를 탑재한 고분자 미셀이 개발되었는데,⁵⁶ 근육종을 가진 백서에서 시행한 광역동치료에서 벤조포르피린 A를 탑재한 mPEG-DSPE 고분자 미셀은 완전한 종양 사멸을 유도하였으나 벤조포르피린 B를 탑재한 미셀은 항종양효과를 나타내지 않았다. 이는 B 이성체를 탑재한 경우에는 미셀에서 벤조포르피린 B가 유리된 뒤에 응집되는 경향에 의한다고 분석되었다.

종양부위가 정상 조직에 비하여 낮은 pH를 보이는 현상은 pH 응답 미셀의 개발을 유도하는 동기가 되었다. pH 응답 미셀은 종양세포의 엔도솜/리소솜으로 흡수된 다음 산성 pH에 의하여 고분자의 구조적인 변화가 유발됨으로써 광활성제를 방출하는 전달체이다. 대표적인 예는 poly N-isopropylacrylamide (NIPA)를 기본으로 하는 고분자 미셀이다. Leroux 등은 NIPA와 methacrylic acid (MAA)로 구성된 공중합체를 제작하여 pH 응답성을 가지도록 하고 octadecyl acrylate (ODA)를 이용하여 미셀을 형성하도록 하였고, 친수성을 강화하기 위하여 N-vinyl-2-pyrrolidone (VP)를 추가한 다음, 수용성이 매우 낮은 aluminum chloride phthalocyanine (AICIPc)를 탑재하였다.^{57,58} *In vitro* 평가에서 pH-응답 고분자 미셀은 cremophor EL 전달체보다 독성이 낮았고 광조사

에 의한 치료효과는 우수하였는데 이는 세포 내 광활성제의 고농도 축적에 기인한다. *In vivo* 평가에서는 기대와는 달리 cremophor EL 제제에 비하여 오히려 간과 비장에 고농도로 축적되고 종양에서는 낮은 농도를 보여 실망스러운 결과를 보였으나 광역동치료 효과는 낮은 농도에도 불구하고 cremophor에 버금가는 효과를 보였다.⁵⁹

고분자 미셀을 이용한 광활성제의 전달은 분명 유망한 영역이며 높은 독성을 보이는 cremophor EL을 대체할 수 있는 전달체로 인정되기는 하지만 아직은 초기 단계에 머물러 있으며, 광활성제를 탑재한 고분자 미셀 전달체의 약동학, 약역학적인 연구도 미흡한 실정으로 임상에 적용하기 위해서는 다소간의 시일이 소요될 전망이다.

5. 수용체 매개형 표적지향성 광활성제 전달(receptor-mediated delivery of photosensitizers)

암 치료에서 표적지향 약물전달이나 치료법은 우선적으로 암특이 항원에 대한 항체를 매개로 하는 항원-항체 반응을 떠오르게 하지만, 수십년간의 연구에도 불구하고 항체를 이용한 표적지향 치료는 아직 뚜렷한 성과를 얻지 못하고 있는데 여기에는 몇 가지 이유가 있다. 첫째, 암특이적이면서 높은 친화성을 가지는 항체를 생산하기가 매우 어려우며, 둘째, 임상적으로 개별 암세포는 이질적인 집단으로 특정 항원을 일률적으로 발현하지 않으며, 셋째, 항원은 고분자 단백질로서 종양 깊숙이 침투하는 데 제한을 받으며, 넷째, 투여한 항체 중 매우 일부만이(1% 미만)이 실제로 암세포에 도달하고 대부분은 중앙혈관에 분포하며, 다섯째, 암세포에 도달하더라도 세포 내로 침투하지 못하는 경우가 많으며, 여섯째, 항체와 약물의 결합이 불안정한 경우에는 전신적인 부작용이 쉽게 유발될 수 있기 때문이다.

광역동치료는 두 단계의 종양선택성을 가지는 치료법이라 할 수 있는데 주입된 광활성제가 상대적으로 정상세포에 비하여 암세포에 5-6배 고농도로 축적된다는 점이 첫째이고, 외부광원을 이용하여 선택적으로 암 부위에만 빛을 조사할 수 있다는 점이 둘째다.⁶⁰ 현재 개발되어 있는 1세대와 2세대 광활성제는 상대적 선택성을 가지기는 하지만 피부와 같은 정상 조직에도 축적이 되기 때문에 피부광민감화 반응과 같은 부작용을 피할 수 없다. 3세대 광활성제는 제형을 변경함으로써 암세포에 대한 선택성을 강화한 제형이라 할 수 있으며, 암특이 항체 또는 혈장이나 체내에 존재하는 단백을 이용한다.

수용체-매개 표적지향 전달은 혈장 또는 체내 단백을 이용하여 전달체의 제형을 변경함으로써 약물전달을 강화하는 방법을 지칭한다. 이는 개념적으로, 항체가 암세포 특이적인 고도의 선택성을 목표로 하는데 반하여 정상세포보다 암세포에 상대적으로 많이 발현되는 수용체를 이용한다는

점에서 상대적인 특이성 강화라 할 수 있다. 정맥으로 주입된 광활성제의 대부분은 수소결합, van der Waal force, π bond stacking 등을 통하여 알부민, 저밀도지단백(LDL), 고밀도지단백(HDL) 등과 같은 혈장 단백질과 결합하며 이들 혈장 단백질이 광활성제의 전달에 주된 역할을 한다.^{61,62} 친수성 광활성제는 주로 알부민과 결합하는 경향이 있으며 소수성 광활성제는 주로 LDL과 결합하는 경향을 가진다. 이들 혈장 단백질과 결합한 제형으로 광활성제를 제작함으로써 암세포로의 전달을 강화할 수 있다는 점이 기본적인 개념으로 LDL이 가장 많이 이용되었다. 지단백 이외에도 알부민, transferrin, 헤모글로빈과 같은 혈장 단백질이나⁶³ annexins, bisphosphonates, steroids, lectins, epidermal growth factor, insulin 등과 같이 비혈장 성분으로 상대적으로 종양에 많이 전달되는 물질을 이용할 수 있으며,^{64,65} 일부에서는 긍정적인 결과를 얻기도 하였다. 이들 물질은 항체와 마찬가지로 광활성제와 직접 결합시키거나, 알부민, 텍스트란, PVAL과 같은 스페이서를 통하여 결합시킬 수 있다. 그러나, 이들 복합체는 리간드의 특성과 복합체의 화학적 구조에 따라 크게 영향을 받는 경향이 있다. Gijens과 Witte⁶⁶는 Sn (IV) chlorin e₆ monoethylenediamine [SnCe6(ED)]를 텍스트란이나 알부민을 통하여 EGF와 결합시켜 투여하였는데, 알부민을 통한 경우에는 수용체에 대한 EGF의 친화성이 현저하게 감소하였다. Akhlynina 등⁶⁷은 알부민-인슐린-Ce₆ 복합 전달체를 이용하여 간암세포주 PLC/PRF/5에서 광역동치료를 시행하였는데 유리형의 Ce₆보다 3-4배 효과적인 치료 효과를 보였다. 하지만, 많은 간암세포는 인슐린 수용체의 발현이 높지 않기 때문에 임상에 적용하기에는 제한을 받는다. 가장 많은 연구가 진행되었던 LDL에 대하여 보다 깊게 살펴보고자 한다 (Table 1).

암세포 표면에 존재하는 지단백 수용체의 수는 광활성제의 흡수와 직접적인 상관관계가 있다. 지속적인 증식을 하는 암세포는 세포막을 생성하기 위하여 콜레스테롤을 필요로 하는데, 콜레스테롤은 세포 내에서 생성이 되거나 세포막 수용체를 통하여 LDL을 흡수함으로써 공급된다. 암세포는 콜레스테롤의 공급을 위하여 LDL을 과발현하는 예가 많기 때문에 LDL을 이용한 광활성제 전달의 이론적인 근거를 제공한다.⁶¹ LDL 이용에 따른 장점은, 첫째, 정상적인 인체 성분이기 때문에 식세포계에 의한 탐식을 피할 수 있고 면역기전에 의한 항원-항체 반응을 유발하지 않으며, 둘째, 크기가 작기 때문에(10-23 nm) 혈관을 통한 확산이 쉽게 이루어지며, 셋째, 소수성 핵에 지용성 약물을 탑재하기가 용이하며, 마지막으로 지용성 광활성제가 LDL과 접촉하면 자발적으로 소수성 핵으로 유입되며 LDL의 물리, 생물학적인 특성은 그대로 보존이 되기 때문에 수용체에 대한 결합능이 유지된다.^{64,68} Candide 등⁶⁹은 하나의 LDL에 130개의 Photo-

Table 1. Lipoprotein-mediated Delivery of Photosensitizers

Photosensitizer	Carriers	Target	Host	Comments
ZnPc ⁷³	LDL	MS-2 fibrosarcoma	Mice	2-fold higher tumor accumulation of dye
BPD-MA ⁷¹	LDL, HDL	M1 rhabdomyosarcoma	Mice	Significantly higher tumor cell killing by LDL conjugated BPD-MA
BPD-MA ⁷²	LDL	CNV	Rabbit	Total choroicapillary closure with minimal retinal damage by PDT
BPD-MA ⁸⁹	LDL	M1 rhabdomyosarcoma	Mice	Verification of LDL receptor-mediated tumor uptake of BPD-LDL
BPD-MA ⁹⁰	LDL Ac-LDL Liposome	Artherosclerotic plaques	Rabbit	Selective accumulation of dye in artherosclerotic plaques by association with lipoprotein
Ce ₆ ⁷⁴	LDL	Retinoblastoma cells	None	3- to 4-fold higher uptake than free dye

frin II 분자를 탑재하였는데 LDL의 음전하는 다소 증가하지만 배양된 세포막 수용체를 통한 상호작용은 변화가 없음을 보여주었다.

세포주와 동물모델을 이용한 몇 연구에서 광활성제를 LDL에 탑재하여 광역동치료의 효과를 향상시킬 수 있음이 확인되었다. Hp를 VLDL, LDL, HDL과 각각 혼합하여 MS-2 섬유육종 백서모델에 투여하였는데, 투여 후 24시간에 측정된 종양/간 광활성제 농도비는 Hp-LDL, Hp-VLDL, Hp-HDL, 유리 Hp의 순이었다.⁷⁰ 다른 보고에서는 photofrin II를 탑재하였을 때, LDL-photofrin II가 HDL-photofrin II보다는 3배, 유리 photofrin II보다는 5배 효과적으로 전달함을 보였다.⁶⁹ 이는 유리 상태의 photofrin II는 응집되는 경향이 있기 때문에 혈중 단백질로의 유입에 지장을 받아 종양으로의 전달이 감소한다고 설명하였다. BPD-MA를 LDL이나 HDL에 탑재한 경우에도 마찬가지로 유리형에 비하여 종양 전달이 증가하고 광역동치료 효과 역시 증가함이 보고되었다.⁷¹

지단백과 결합한 광활성제는 종양의 신생혈관에도 축적되는데 종양과 마찬가지로 종양혈관도 빠른 증식으로 인해서 LDL 수용체가 증가하기 때문이다. Schmidt-Erfurth 등⁷²은 BPD-MA를 맥락막 신생혈관에 전달하기 위하여 LDL에 탑재하여 주입한 뒤 광역동 치료를 시행하여 완전한 혈관 폐쇄를 유도하였다. 한편, ZnPc를 DPPC 리포솜 또는 LDL에 탑재하여 MS-2 섬유육종 백서에 투여하면 LDL을 사용한 경우에 ZnPc의 종양축적이 2배 높았다.⁷³ 그러나 고농도의 종양 축적이 유지되는 시간이 짧았는데 이는 광활성제가 LDL에 화학적으로 단단하게 결합되어 있지 않기 때문에 광활성제의 재분포가 쉽게 일어나기 때문이다. 이러한 문제를 극복하기 위해서는 광활성제와 LDL을 화학적으로 결합시키는 방법이 필요한데, Chlorin (Ce₆)을 LDL에 펩타이드 결합을 통하여 탑재함으로써 Ce₆-LDL 단순 혼합체나 유리 Ce₆보다 효과적인 광역동치료 효과를 유도하였다.⁷⁴

실험 연구에서 지단백을 광활성제의 전달체로 이용하는 방법은 주목을 끌고 있으나 임상 적용하기까지는 몇 가지 문제점을 안고 있다. 동물실험에서 얻어진 결과를 그대로 인체에 적용하기 어려운 이유의 하나는 동물과 인간의 혈청 단백질 구성에 차이가 있고, 식습관이나 대사 기능에 따른 개인적인 차이도 존재한다는 점이다. 실제로 설치류와 인간의 지단백 구성은 큰 차이를 보이는데, 가령 백서의 혈중 LDL 농도는 0.6 mg/ml인 반면에 인간은 1-2 mg/ml로 훨씬 높다. 그럼에도 불구하고 설치류의 조직이 인간의 LDL을 흡수할 수 있는 수용체를 발현하기 때문에 실험 모델로 이용할 여지는 있으나, 얻어진 자료를 인체에 적용하기 위해서는 많은 검증이 필요하다.

6. 암특이 항체-매개 표적지향 광활성제 전달(antibody-mediated targeted delivery)

항체를 이용한 표적지향 약물 전달은 선택적인 암과괴를 유도할 수 있는 획기적인 방법이다. 이론적인 장점은, 첫째, 항원-항체 특이 반응을 이용하기 때문에 선택적으로 암세포에 약물을 전달함으로써 종양 내 고농도의 약물 축적을 유도할 수 있고, 둘째, 보다 낮은 농도로 동일한 항암효과를 유발할 수 있기 때문에 종양 이외 타 장기 약물 축적에 따른 부작용을 줄일 수 있으며, 셋째, 유전체, 단백질 등의 생명과학 연구에서 얻어진 생물학 정보에서 밝혀진 암특이 항원에 대한 표적지향 항체를 생산/응용할 수 있으므로 응용 범위가 광범위하다(Table 2).

암세포에 특이적으로 발현되는 항원에 대한 항체를 생산하여 광활성제와 결합시킨 뒤 정맥으로 투여한다. 원론적으로 항체와 결합한 광활성제나 항암약물이 본래의 활성을 잃지 않아야 하는데 이는 실험적으로 규명된 바 있다. 실험 연구에 따르면, 고무적인 결과를 보이는데 특히 작은 종양이나 암 복수에 효과가 있다고 보고되고 있으며 낮은 용량으

Table 2. Antibody-mediated Targeted Delivery of Photosensitizers and PDT Effects

Photosensitizer	Antibody carrier	Spacer	Tumor	Comments
Hp ⁷⁵	Anti-M1	None	M1 rhabdomyosarcoma (mice)	Significant tumor growth retardation at lower conjugate dose compared to Hp alone
Hp ⁹¹	CAMAL-1	None	M1 rhabdomyosarcoma (cells)	Significantly higher tumor cell death compared to controls
Ce ₆ ⁹²	Anti-Leu-1	Dextran	Human T leukemia (cells)	Chlorin:MoAb ratio 30:1 induction of 90% cell death
AISPc ⁸⁶	Liposome-791T/36	PVAL	Osteosarcoma (791T)	Less toxicity by targeted AISPc liposomes
Ce ₆ ⁸³	17.1A	Poly-L-lysine	Liver metastasis from colorectal cancer	Higher tumor cell death compared to free dye
m-THPC ⁹³	U36	None	Squamous cell carcinoma	Rapid clearance from the bloodstream
CMA ⁹⁴	Anti-Leu-1	PGA	Human T leukemia	CMA:MoAb ratio 36:1 preservation of 70% binding activity and specificity

로도 우수한 광독성 효과를 보인다. 펩타이드 결합을 통하여 항-rhabdomyosarcoma M1 항체가 결합된 Hp를 이용한 실험에서 95% T1-종양세포주의 사멸을 유도하였으나, 동일한 농도의 유리형 Hp에서는 사멸효과가 없었다.⁷⁵ 백서모델에서도 anti-M1-Hp는 유리형 Hp보다 10배 낮은 농도에서 동일한 종양 억제 효과를 보였다.

항체를 광활성제와 직접적으로 결합시키는 방법은 기술적으로 어렵지 않으나 간혹 광활성제와 결합된 항체가 항원에 대한 특이성을 잃는 경우가 있는데, 이는 결합으로 인하여 항체의 물리화학적 성상이 변화하기 때문이다.⁷⁶ 소수성 광활성제를 결합하는 경우에는 항체의 용해도에 영향을 주기 때문에 이로 인해 항체 한 분자에 결합할 수 있는 광활성제 분자수에 제한을 받는다. 항체 자체도 문제를 유발할 수 있는데 아미노기와 카르복실기를 가지는 항체의 특성상 항체간의 결합이 유발될 수도 있다. 이러한 문제들을 극복하기 위한 방법으로 항체와 광활성제의 결합을 매개하는 스페이서를 이용하는 방법이 고안되었는데 주로 다당류 또는, 텍스트란,⁷⁷ polyglutamic acid (PGA),⁷⁸ PVAL⁷⁹과 같은 폴리머를 이용한다. 스페이서에는 다수의 광활성제가 결합할 수 있기 때문에 항체 한 분자에 여러 광활성제 분자를 연결할 수 있다. 텍스트란을 이용하여 Ce₆를 anti-Leu-1 항체에 결합하였는데 항체 한 분자당 36개의 Ce₆를 연결할 수 있었고 항체는 85%의 항원 결합능을 유지하였으며, Ce₆의 흡수 스펙트럼에는 변화가 없었다.⁸⁰ 텍스트란에는 유리 아미노기가 다수 존재하기 때문에 항체-항체 결합에 의한 응집이 단점으로 지적되었다. 또한, PVAL을 이용하여 anti-CGH (chorionicgonadotropic hormone)-Ab와 BPD-MA를 정량적으

로 결합하는 방법에 성공하였다.⁷⁹ 편평상피암종세포 표면에 발현하는 당단백에 대한 항체인 5E8과 BPD-MA를 마찬가지로 PVAL을 이용하여 결합한 뒤 실험실에서 수행한 광역동치료에서 비특이 항체와 결합한 BPD-co-PVAL-T48에 비하여 BPD-co-PVAL-5E8은 10배 이상의 광독성이 나타났다.⁸¹

최근에는 poly-L-lysine을 매개로 Ce₆와 항체를 결합시킴으로써 다중 양전하 또는 음전하를 가지는 전달체를 생성하는 방법이 개발되었다.^{82,83} HT29 대장암 세포주 실험에서 전하에 상관없이 Ce₆-p-Lysine-Ab는 유리형의 Ce₆에 비하여 선택적인 흡수와 광독성을 나타내었다.⁸³ 다중 양전하를 가지는 전달체를 이용하면 음전하 전달체에 비하여 Ce₆의 세포 내 흡수는 4배 이상 증가하나, 동물 모델에서 정맥으로 투여하면 반대로 음전하 전달체를 이용하는 경우에 보다 높은 농도로 암조직에 Ce₆가 축적되었다.⁸⁴ 양전하 전달체는 정맥으로 투여하면 대부분이 폐로 흡수되고 혈관이나 다른 장기에는 소량만이 축적되는 반면에, 복강 내로 투여하면 보다 효과적으로 암조직에 광활성제가 흡수된다.⁸² 즉, 음전하 전달체는 정맥으로, 양전하 전달체는 복강으로 투여해야 효율적으로 광활성제의 암조직 축적을 유도한다.

표적지향 광활성제 전달체를 제작하는 다른 방법은 표적지향 항체가 코팅된 콜로이드 전달체에 광활성제를 탑재하는 방법이다. 콜로이드 전달체에는 리포솜이나 폴리머 나노소자 등이 포함되는데 표면에 다수의 표적지향 항체를 부착함으로써 우수한 표적지향성을 획득할 수 있다.⁸⁵ 791 T/36 항체를 코팅한 리포솜에 aluminum phthalocyanine (AISPc)를 탑재하여 세포주에서 광역동치료를 시행하였는데 세포 표

면에 79IT/36을 발현하는 세포에서만 선택적으로 신속한 세포자멸사가 유도되었다.⁸⁶ 세포자멸사 효과는 흡수된 광활성제 농도, 세포 표면의 항원 밀도, 조사하는 광량에 비례하여 증가하였다. 하지만, 동물실험에서는 제한적인 효과만을 보이는 경우가 많았는데 이는 식세포에 노출되어 전달체가 탐식되었기 때문이다. 식세포에 의한 탐식을 억제하기 위해서는 전향체 대신 $F(ab')_2$ 분절을 이용하는 방법과 정맥 투여가 아닌 복강 내 투여를 이용하는 방법이 있다.⁸⁷

실험실에서 규명된 다수의 고무적인 결과에도 불구하고 임상시험에 진입하기 위해서는 넘어야 할 장벽이 있다. 생체 내에서 광활성제-항체 복합체의 효과는 종양 접근성, 표적항체 항체의 종양 내 축적, 암세포 표면의 항원 밀도, 암세포마다 발현되는 표면 항원의 다양성 등과 같은 다양한 요인에 의하여 결정된다. 표적항원은 대상으로 하는 특정 암에서 암세포의 표면에 다량으로 발현되고 정상세포에서는 발현되지 않아야 이상적이다. 불행하게도 현실적으로 그러한 항원은 존재하지 않으며 상대적으로 암세포에 많이 발현되는 종양 관련 항원이 이용되는데 정상 세포에서도 발현이 된다. 이러한 종양 관련 항원도 유용한데, 특히 항원을 발현하는 정상조직으로 항체의 전달률이 매우 낮거나 레이저조사를 피할 수 있는 조직인 경우에 그러하다.

암세포에서 전달체의 흡수는 세포 표면의 항원뿐 아니라 항체의 크기에 따라서도 좌우된다. 완전한 항체 한 분자는 150 kDa의 분자량을 갖는데 이는 1 kDa이 채 안 되는 광활성제에 비하여 어마어마한 크기다. 이러한 거대 분자는 종양의 간질조직을 통과하는 데 제한을 받기 때문에 $F(ab')_2$ 또는 Fv 분절을 이용하는 것이 유리할 수 있으나 아직 실험적으로 규명되지 않았다. 다른 문제의 하나는, 항체의 대부분이 설치류에서 만들어지기 때문에 반복적으로 인체에 투여하면 anti-idiotypic 항체가 생성될 수 있다는 점이다.⁸⁸ 설치류의 항체는 외부 항원으로 인식되어 면역반응에 의하여 생성된 항체에 의해 중화된다. 이러한 면역반응은 전달체가 종양에 도달하기 전에 혈중에서 청소되는 결과를 낳는다. 면역반응의 문제를 완전히 해소하기는 매우 어려운데 제시되는 대안으로는 인간 항체를 사용하는 방법과 cyclosporine A나 스테로이드와 같은 면역억제제를 사용하는 방법이 있다.

종양에 도달한 항체-광활성제 복합전달체가 암세포 표면의 항원에 도달하기 위해서는 여러 물리적인 장벽을 통과해야 한다. 암조직의 혈류 분포는 일정하지 않아서 증식부위는 혈관이 잘 발달되는데 반하여 괴사부위는 혈관 발달이 미미하다. 전체적으로 정상 조직에 비하여 암조직의 혈류량은 낮은 편이다. 종양혈관에 도달한 전달체는 일차적으로 혈관벽을 통과해야 하는데 혈관벽의 장벽은 내피세포에 의해 형성된다. 간이나 비장에는 내피세포에 천공(fenestra)이 있어 실제적으로 물리적인 장벽이 없기 때문에 전달체가 다

량으로 축적될 수 있다. 반면에 폐와 피부의 내피세포는 조밀한 구조를 가지고 있어 전달체가 통과하기 어려운데 이는 피부광민감화 반응을 피할 수 있다는 장점으로 작용한다. 암조직 혈관의 내피에는 천공이 잘 형성되어 있고 기저막이 불완전한 경우가 많아 혈관벽은 쉽게 통과한다. 혈관벽을 통과한 전달체는 확산과 대류를 통하여 간질 조직을 통과해야 하는데 간질을 많이 형성하는 종양에서는 그만큼 암세포로의 전달이 어렵다. 작은 종양일수록 암세포에 전달체가 쉽게 도달한다. 종양 측면에서 다른 제한점 중의 하나는 실제로 암세포가 확립적이지 않다는 것이다. 각 암세포의 항원 프로파일은 시간에 따라 변화하여 특정 항원이 소실되기도 하고 항원성의 변화가 유발되기도 한다. 혈중으로 방출되는 항원은 치료효과를 감소시키는 원인이 되는데, 투여된 전달체가 종양에 도달하기 전에 혈중에서 항원과 결합할 수 있기 때문이다. 가장 중요한 요인은 표적 항원의 항원성과 발현 정도인데 전달체의 암세포 축적을 저해함으로써 치료 효과를 감소하는 주 원인으로 작용한다. 대안으로는 여러 항원에 대한 몇 가지 항체를 혼합함으로써 광활성제 전달을 극대화하는 방법이 제시된다.

맺음말

광역동치료는 임상 영역은 물론 기초연구 영역에서도 많은 기회를 제공하고 있다. 나노공학과 생명공학 분야의 연구개발에 기초하여 발달한 약물전달기술은 각종 항암약물은 물론, 광역동치료의 효과를 매개하는 광활성제의 효과적인 전달에 응용되기 시작하였다. 약물전달기술을 적용한 임상연구는 드물어 아직 미답 영역에 머물러 있으나, 실험실 수준에서의 연구는 현재에도 활발하게 진행되고 있다. 광역동치료의 성패는 적합한 광활성제의 선택, 효율적인 약물전달, 투여 후 이상적인 시간에 레이저를 이용한 광활성제의 활성화에 달려 있다. 특히 효율적인 광활성제의 선택적인 암세포 내 전달은 주어진 재원하에서 치료 효과를 극대화할 수 있는 필수적인 요소이다. 전달 기술은 광활성제와 전달소재의 물리화학적 특성을 이용하여 효과적인 약물-전달체 복합체를 개발함으로써, 약물의 경정맥 주입을 용이하게 함은 물론 암조직으로의 흡수를 향상시키는 데 목적을 둔다. 현재까지 이루어진 실험실과 동물 연구의 결과는 종양 내 축적을 강화하고 효과를 증대시키는 고무적인 결과를 보이고 있다. 새로운 소재와 이를 이용한 약물-전달체 복합체의 개발 연구는 머지않아 가시적인 성과를 낼 것이며, 이러한 성과는 암을 극복하는 숙원 사업에 한 걸음 다가서는 결과를 가져올 것이라 기대한다.

참고문헌

1. Allison RR, Mang TS, Wilson BD. Photodynamic therapy for the treatment of nonmelanomatous cutaneous malignancies. *Semin Cutan Med Surg* 1998;17:153-163.
2. Moan J, Peng Q. An outline of the hundred-year history of PDT. *Anticancer Res* 2003;23:3591-3600.
3. Parrish JA, Fitzpatrick TB, Tanenbaum L, et al. Photochemotherapy of psoriasis with oral methoxsalen and longwave ultraviolet light. *N Engl J Med* 1974;291:1207-1211.
4. Daniell MD, Hill JS. A history of photodynamic therapy. *Aust NZ J Surg* 1991;61:340-348.
5. Allison RR, Mota HC, Sibata CH. Clinical PD/PDT in north America: an historical review. *Photodiag Photodyn Ther* 2004;1:263-277.
6. Lipson RL, Baldes EJ. Hematoporphyrin derivative: a new aid for endoscopic detection of malignant disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1961;42:623-629.
7. Dougherty TJ, Grindey GB, Fiel R, Weishaupt KR, Boyle DG. Photoradiation therapy II. Cure of animal tumors with hematoporphyrin and light. *J Natl Cancer Inst* 1975;55:115-121.
8. Dougherty TJ, Lawrence G, Kaufman JH, Boyle D, Weishaupt KR, Goldfarb A. Photoradiation in the treatment of recurrent breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1979;62:231-237.
9. Allison RR, Downie GH, Cuenca R, Hu XH, Childs CJH, Sibata CH. Photosensitizers in clinical PDT. *Photodiag Photodyn Therapy* 2004;1:27-42.
10. Detty MR, Gibson SL, Wagner SJ. Current clinical and preclinical photosensitizers for use in photodynamic therapy. *J Med Chem* 2004;47:3897-3915.
11. Wilson BC, Olivo M, Singh G. Subcellular localization of photofrin and aminolevulinic acid and photodynamic cross-resistance in vitro in radiation-induced fibrosarcoma cells sensitive or resistant to photofrin-mediated photodynamic therapy. *Photochem Photobiol* 1997;65:166-176.
12. Geze M, Morliere P, Maziere JC, Smith KM, Santus R. Lysosomes, a key target of hydrophobic photosensitizers proposed for photochemotherapeutic applications. *J Photoch Photobio B* 1993;20:23-35.
13. MacDonald IJ, Morgan J, Bellnier DA, et al. Subcellular localization patterns and their relationship to photodynamic activity of pyropheophorbide-a derivatives. *Photochem Photobiol* 1999;70:789-797.
14. Nagata S, Obana A, Gohto Y, Nakajima S. Necrotic and apoptotic cell death of human malignant melanoma cells following photodynamic therapy using an amphiphilic photosensitizer ATX-S10(Na). *Laser Surg Med* 2003;33:64-70.
15. Berg K, Prasmickaite L, Selbo PK, Hellum M, Bonsted A, Hogset A. Photochemical internalization (PCI)-a novel technology for release of macromolecules from endocytic vesicles. *Oftalmologia* 2003;56:67-71.
16. Morgan J, Oseroff AR. Mitochondria-based photodynamic anti-cancer therapy. *Adv Drug Deliv Rev* 2001;49:71-86.
17. Runnels JM, Chen N, Ortel B, Kato D, Hasan T. BPD-MA-mediated photosensitization in vitro and in vivo: cellular adhesion and beta1 integrin expression in ovarian cancer cells. *Br J Cancer* 1999;80:946-953.
18. Takeuchi Y, Kurohane K, Ichikawa K, Yonezawa S, Nango M, Oku N. Induction of intensive tumor suppression by antiangiogenic photodynamic therapy using polycation-modified liposomal photosensitizer. *Cancer* 2003;97:2027-2034.
19. Dumin H, Cernay T, Zimmermann HW. Selective photosensitization of mitochondria in HeLa cells by cationic Zn (II) phthalocyanines with lipophilic side-chains. *J Photoch Photobio B* 1997;37:219-229.
20. Aveline BM, Redmond RW. Can cellular phototoxicity be accurately predicted on the basis of sensitizer photophysics? *Photochem Photobiol* 1999;69:306-316.
21. Teiten MH, Bezdetsnaya L, Morliere P, Santus R, Guillemin F. Endoplasmic reticulum and golgi apparatus are the preferential sites of Foscan localization in cultured tumour cells. *Br J Cancer* 2003;88:146-152.
22. Poste G, Kirsh R, Allison BA. Site-specific (targeted) drug delivery in cancer therapy. *Bio/Technology* 1983;1:869-878.
23. Steyger PS, Baban DF, Brereton M, Ulbrich K, Seymour LW. Intratumoral distribution as a determinant of tumour responsiveness to therapy using polymer-based macromolecular pro-drug. *J Control Release* 1996;39:35-46.
24. Juliano RL. Factors affecting the clearance kinetics and tissue distribution of liposomes, microspheres and emulsions. *Adv Drug Deliv Rev* 1988;2:31-54.
25. Vemuri S, Rhodes CT. Preparation and characterization of liposomes as therapeutic delivery systems: a review. *Pharm Acta Helv* 1995;70:95-111.
26. Damoiseau X, Schuitmaker HJ, Lagerberg JWM, Hoebeke M. Increase of photosensitizing efficiency of the bacteriochlorin a by liposomes-incorporation. *J Photoch Photobio B Biol* 2001;60:50-60.
27. Jori G, Reddi E, Cozzani I, Tomio L. Controlled targeting of different subcellular sites by porphyrin in tumour-bearing mice. *Br J Cancer* 1986;53:615-621.
28. Richter AM, Waterfield E, Jain AK, Canaan JA, Allison BA,

- Levy JG. Liposomal delivery of a photosensitizer benzoporphyrin derivative monoacid ring A (BPD), to tumor tissue in a mouse tumor model. *Photochem Photobiol* 1993;57:1000-1006.
29. Keene JP, Kessel D, Land EJ, Redmond RW, Truscott TG. Direct detection of singlet oxygen sensitized by haemato-porphyrin and related compounds. *Photochem Photobiol* 1986; 43:117-120.
 30. Isele U, Schieweck K, Kessler R, Hoogevest PV, Capraro HG. Pharmacokinetics and body distribution of liposomal zinc phthalocyanine in tumor-bearing mice: influence of aggregation state, particle size and composition. *J Pharm Sci* 1995;84:166-173.
 31. Lasic DD, Martin FJ, Gabizon A, Huang SK, Papahadjopoulos D. Sterically stabilized liposomes: a hypothesis on the molecular origin of the extended circulation time. *Biochim Biophys Acta* 1991;1070:187-192.
 32. Kulkarni SR, Korgaonkar CK. Photodynamic therapy: a novel approach to treat variety of diseases. *Indian Drugs* 1996; 33:487-495.
 33. Schroit AJ, Madsen J, Nayar R. Liposome-cell interactions; in vitro discrimination of uptake mechanism and in vivo targeting strategies to mononuclear phagocytes. *Chem Phys Lipids* 1986;40:373-393.
 34. Rensen PC, Love WG, Taylor PW. In vitro interaction of zinc (II)-phthalocyanine-containing liposomes and plasma lipoproteins. *J Photochem Photobiol B* 1994;26:29-35.
 35. Renno RZ, Miller JW. Photosensitizer delivery for photodynamic therapy of choroidal neovascularization. *Adv Drug Deliv Rev* 2001;52:63-78.
 36. Konan YN, Gurny R, Allemann E. State of art in the delivery of photosensitizers for photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B* 2002;66:89-106.
 37. Selman SH, Garbo GM, Keck RW, Kreimer-Birbaum M, Morgan AR. A dose responsive analysis of purpurin derivatives used as photosensitizers for the photodynamic treatment of transplantable fanft induced urothelial tumors. *J Urol* 1987;137:1255-1257.
 38. Morgan AR, Garbo GM, Keck RW, Selman SH. New photosensitizers for photodynamic therapy: combined effect of metalloporphyrin derivatives and light on transplantable bladder tumors. *Cancer Res* 1988;48:194-198.
 39. Worle D, Muller S, Shopova M, et al. Effect of delivery system on the pharmacokinetic and phototherapeutic properties of bis (methoxyethyleneoxy) silicon-phthalocyanine in tumor-bearing mice. *J Photochem Photobiol B* 1999;50: 124-128.
 40. Kessel D, Morgan A, Garbo GM. Sites and efficacy of photodamage by tin etiopurpurin in vitro using different delivery systems. *Photochem Photobiol* 1991;54:193-196.
 41. Michaud LB. Methods for preventing reactions secondary to cremophor EL. *Ann Pharmacother* 1997;31:1402-1404.
 42. Labib A, Lenaerts V, Chouinard F, Leroux JC, Ouellet R, Van Lier JE. Biodegradable nanospheres containing phthalocyanines and naphthalocyanines for targeted photodynamic tumor therapy. *Pharm Res* 1991;8:1027-1031.
 43. Allemann E, Brasseur N, Benrezzak O, et al. PEG-coated poly (lactic acid) nanoparticels for the delivery of hexadeca-fluoro zinc phthalocyanine to EMT-6 mouse mammary tumors. *J Pharm Pharmacol* 1995;47:382-387.
 44. Bachor R, Shea CR, Belmonte SJ, Hasan T. Free and conjugated chlorin e6 in the photodynamic therapy of human bladder carcinoma cells. *J Urol* 1991;146:1654-1658.
 45. Bachor R, Shea CR, Gilles R, Hasan T. Photosensitized destruction of human bladder carcinoma cells treated with chlorin e6-conjugated microspheres. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:1580-1584.
 46. Tijerina M, Foweres KD, Kopeckova P, Kopecek J. Chronic exposure of human ovarian carcinoma cells to free or HPMA copolymer-bound mesochlorin e6 does not induce p-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Biomaterials* 2000;21: 2203-2210.
 47. Brasseur N, Ouellet R, La Madeleine C, Van Lier JE. Water soluble aluminum phthalocyanine-polymer conjugates for PDT: photodynamic activities and pharmacokinetics in tumour-bearing mice. *Br J Cancer* 1999;80:1533-1541.
 48. Westermann R, Glanzmann T, Andrejevie S, et al. Long circulating half-life and high tumor selectivity of the photosensitizer meta-tetrahydroxyphenylchlorin conjugated to polyethylene glycol in mice grafted with a human colon carcinoma. *Int J Cancer* 1998;76:842-850.
 49. Bellemo C, Jori G, Rihter BD, Kenney ME, Rodgers MAJ. Si (IV)naphthalocyanine: modulation of its pharmacokinetic properties through the use of hydrophilic axial ligands. *Cancer Lett* 1992;65:145-150.
 50. Yasugi K, Nagasaki Y, Kato M, Kataoka K. Preparation and characterization of polymer micelles from poly (ethylene glycol)-poly (D,L-lactide) block copolymers as potential drug carrier. *J Control Release* 1999;62:89-100.
 51. Nakanishi T, Fukushima S, Okamoto K, et al. Development of the polymer micelle carrier system for doxorubicin. *J Control Release* 2001;74:295-302.
 52. Chung JE, Yokoyama M, Yamato M, Aoyagi T, Sakurai Y, Okano T. Thermo-responsive drug delivery from polymeric

- micelles constructed using block copolymers of poly (N-isopropylacrylamide) and poly (butylmethacrylate). *J Control Release* 1999;62:115-127.
53. Adams ML, Lavasanifar A, Kwon GS. Amphiphilic block copolymers for drug delivery. *J Pharm Sci* 2003;92:1343-1355.
 54. Kwon G, Suwa S, Yokoyama M, Okano T, Sakurai Y, Kataoka K. Enhanced tumor accumulation and prolonged circulation times of micelle-forming poly (ethylene oxide-aspartate) block copolymer-adriamycin conjugates. *J Control Release* 1994;29:17-23.
 55. Hioka N, Chowdhary RK, Chansarkar N, Delmarre D, Sternberg E, Dolphin D. Studies of benzoporphyrin derivative with Pluronics. *Can J Chem* 2002;80:1321-1326.
 56. Zhang JX, Hansen CB, Allen TM, Boey A, Boch R. Lipid-derivatized poly (ethylene glycol) micellar formulations of benzoporphyrin derivatives. *J Control Release* 2003;86:323-338.
 57. Taillefer J, MC Jones, Brasseur N, van Lier JE, Leroux JC. Preparation and characterization of pH-responsive polymeric micelles for the delivery of photosensitizing anticancer drugs. *J Pharm Sci* 2000;89:52-62.
 58. Le Garrec D, Taillefer J, van Lier JE, Lenaerts V, Leroux JC. Optimizing pH-responsive polymeric micelles for drug delivery in a cancer photodynamic therapy model. *J Drug Target* 2002;10:429-437.
 59. Taillefer J, Brasseur N, van Lier JE, Lenaerts V, Le Garrec D, Leroux JC. In-vitro and in-vivo evaluation of pH-responsive polymeric micelles in a photodynamic cancer therapy model. *J Pharm Pharmacol* 2001;53:155-166.
 60. Sharman WM, Allen CM, van Lier JE. Role of activate oxygen species in photodynamic therapy. *Methods Enzymol* 2000;319:376-400.
 61. Jori G, Beltrami M, Reddi E, et al. Evidence for a major role of plasma lipoproteins as hematoporphyrin carriers in vivo. *Cancer Lett* 1984;24:291-297.
 62. Hynds SA, Welsh J, Stewart JM, et al. Low-density lipoprotein metabolism mice with soft tissue tumours. *Biochim Biophys Acta* 1984;794:589-595.
 63. Hamblin MR, Newman EL. Photosensitizer targeting in photodynamic therapy I. Conjugates of haematoporphyrin with albumin and transferrin. *J Photochem Photobiol B* 1994;26:45-46.
 64. Sharman WM, van Lier JE, Allen CM. Targeted photodynamic therapy via receptor mediated delivery systems. *Adv Drug Delivery Rev* 2004;56:53-76.
 65. Lutsenko SV, Feldman NB, Finakova GV, et al. Targeting phthalocyanines to tumor cells using epidermal growth factor conjugates, *Tumour Biol* 1999;20:218-224.
 66. Gijssens A, Witte P. Phototoxic action of EGF-PVA-Sn (IV) chlorin e6 and EGF-dextran-Sn (IV)chlorin e6 internalizable conjugates on A431 cells. *Int J Cancer* 1998;13:1171-1177.
 67. Akhlynina TV, Rosenkranz AA, Jans DA, Sobolev AS. Insulin-mediated intracellular targeting enhances the photodynamic activity of chlorin e6. *Cancer Res* 1995;55:1014-1019.
 68. van Berkel TJC. Drug targeting: application of endogenous carriers for site-specific delivery of drugs. *J Control Release* 1993;24:145-155.
 69. Candide C, Morliere P, Goldstein S, et al. In vitro interaction of the photoactive anticancer porphyrin derivative photofrin II with low density lipoprotein, and its delivery to cultured human fibroblasts. *FEBS Lett* 1986;207:133-138.
 70. Barel A, Jori G, Perin A, Romandini P, Pagnan A, Biffanti S. Role of high, low-and very low-density lipoproteins in the transport and tumor-delivery of hematoporphyrin in vivo. *Cancer Lett* 1986;32:145-150.
 71. Allison BA, Waterfield E, Richter AM, Levy JG. The effects of plasma lipoproteins on in vitro tumor cell killing and in vivo tumor photosensitization with benzoporphyrin derivative. *Photochem Photobiol* 1991;54:709-715.
 72. Schmidt-Erfurth U, Hasan T, Gragoudas ES, Michaud N, Flotte TJ, Birngruber R. Vascular targeting in photodynamic occlusion of subretinal vessels. *Ophthalmology* 1994;101:1953-1961.
 73. Reddi E, Zhou C, Biolo R, Menegaldo E, Jori G. Liposome or LDL-administered Zn (II)-phthalocyanine as a photodynamic agent for tumors. I. Pharmacokinetic properties and phototherapeutic efficiency. *Br J Cancer* 1990;61:407-411.
 74. Schmidt-Erfurth U, Diddens H, Birngruber R, Hasan T. Photodynamic targeting of human retinoblastoma cells using covalent low-density lipoprotein conjugates. *Br J Cancer* 1997;75:54-61.
 75. Mew D, Wat CK, Towers GHN, Levy JG. Photoimmunotherapy: treatment of animal tumors with tumor-specific monoclonal antibody-hematoporphyrin conjugates. *J Immunol* 1983;130:1473-1477.
 76. Klyashchitsky BA, Nechaeva IS, Ponomaryov GV. Approaches to targeted photodynamic tumor therapy. *J Control Release* 1994;29:1-16.
 77. Segalla A, Milanesi C, Capraro HG, Isele U, Schieweck K. CGP 55398, a liposomal Ge (IV) phthalocyanine bearing two axially ligated cholesterol moieties: a new potential agent for photodynamic therapy of tumours. *Br J Cancer* 1994;69:817-825.

78. Illum L, Jones PDE. Attachment of monoclonal antibodies to microspheres. *Methods Enzymol* 1985;112:67-84.
79. Jiang FN, Jiang S, Liu D, Ritcher A, Levy JG. Development of technology for linking photosensitizers to a model monoclonal antibody. *J Immunol Methods* 1990;134:139-149.
80. Oseroff AR, Ara G, Ohuoha D, et al. Strategies for selective cancer photochemotherapy: antibody-targeted and selective carcinoma cell photolysis. *Photochem Photobiol* 1987;46:83-96.
81. Jiang FN, Allison B, Liu D, Levy JG. Enhanced photodynamic killing of target cells by either monoclonal antibody or low density lipoprotein mediated delivery systems. *J Control Release* 1992;19:41-58.
82. Duska LR, Hamblin MR, Bamberg MP, Hasan T. Biodistribution of charged F(ab')₂ photoimmuno-conjugates in a xenograft model of ovarian cancer. *Br J Cancer* 1997;75:837-844.
83. Del Governatore M, Hamblin MR, Piccinini EE, Ugolini G, Hasan T. Targeted photodestruction of human colon cancer cells using charged 17.1A chlorin e6 immunoconjugates. *Br J Cancer* 2000;82:56-64.
84. Hamblin MR, Del Governatore M, Rizvi I, Hasan T. Biodistribution of charged 17.4A photoimmunoconjugates in a murine model of hepatic metastasis of colorectal cancer. *Br J Cancer* 2000;83:1544-1551.
85. Liu D, Huang L. Immunoliposome targeting to pulmonary endothelium. In: Gregoriadis G, Florence AT, Patel HM, eds. *Liposomes in drug delivery*. 1st ed. Switzerland: Harwood Academic Publishers, 1993:111-121.
86. Morgan J, Gray AG, Huehns ER. Specific targeting and toxicity of sulphonated aluminum phthalocyanine photosensitized liposomes directed to cells by monoclonal antibody in vitro. *Br J Cancer* 1989;59:366-370.
87. Maruyama K, Ishida O, Takizama T, Moribe K. Possibility of active targeting to tumor tissues with liposomes. *Adv Drug Deliv Rev* 1999;40:89-102.
88. Bos E, Boon P, Kaspersen F, McCabe R. Passive immunotherapy of cancer: perspectives and problems. *J Control Release* 1991;16:101-112.
89. Allison BA, Pritchard PH, Levy JG. Evidence for low-density lipoprotein receptor-mediated uptake of benzoporphyrin derivative. *Br J Cancer* 1994;69:833-839.
90. Allison BA, Crespo MT, Jain AK, Richter AM, Hsiang YS, Levy JG. Delivery of benzoporphyrin derivate, a photosensitizer, into atherosclerotic plaque of watanabe heritable hyperlipidemic rabbits and balloon-injured New Zealand rabbits. *Photochem Photobiol* 1997;65:877-883.
91. Mew D, Lum V, Wat CK, et al. Ability of specific monoclonal antibodies and conventional antisera conjugated to hematoporphyrin to label and kill selective cell lines subsequent to light activation. *Cancer Res* 1985;45:4380-4386.
92. Oseroff AR, Ohuoda D, Hasan T, Bommer JC. Antibody-targeted photolysis: selective photodestruction of human T-cell leukemia cells using monoclonal antibody-chlorin e6 conjugate. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:8744-8748.
93. Vrouenraets MB, Visser GWM, Loup C, et al. Targeting of a hydrophilic photosensitizer by use on internalizing monoclonal antibodies: a new possibility for use in photodynamic therapy. *Int J Cancer* 2000;88:108-114.
94. Hasan T, Lin A, Yarmush D, Oseroff A, Yarmush M. Monoclonal antibody-chromophore conjugate as selective phototoxins. *J Control Release* 1989;10:107-117.