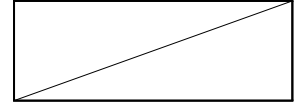


2019년 12월

19ZS1400



# 전기장을 이용한 입는 암 치료기 핵심모듈 기술개발

Wearable Cancer Treatment System Using Electric Field

## 최종결과 연구보고서(아래한글)

최종결과 연구보고서				
과제유형	1. 기초미래선도형 ( ○ )    2. 공공인프라형 (   )    3. 산업화형 (   )			
대과제명	ETRI R&D 역량 강화를 위한 선행적 기획기반 구축사업			
세부과제명	전기장을 이용한 입는 암 치료기 핵심모듈 기술개발			
세부과제 책임자	소속 및 부서	복지의료ICT연구단	직위 (직급)	책임연구원 (PL)
	성명	이대식		
총연구기간	2018 년 1 월 1 일 부터 2019 년 12 월 31 일 까지( 24 개월)			
당해연도 연구기간	2019 년 1 월 1 일 부터 2019 년 12 월 31 일 까지( 24 개월)(2 차년도)			
참여인력(M/Y)	총 연구 기간		12 명 ( 3.0 M/Y)	
	당해연도 연구기간		6 명 ( 1.5 M/Y)	
참여기관	기관명	연구책임자	기관명	연구책임자
참여연구기관				
위탁연구기관	한국원자력의학원	김재성		
키워드 (6~10개)				
정부출연금사업 최종결과 연구보고서를 제출합니다.  2019 년 12 월 6 일  과 제 책 임 자 : 이 대 식        (인) 직 할 부 서 장 : 박 중 현        (인)				
<b>한국전자통신연구원장    귀하</b>				

# I. 연구 목적 및 중요성

- **(암치료의 중요성)** 매년 국내 암 발생환자의 수는 7%씩 증가하고 있고, 특히 암은 심혈관질환과 더불어 전 세계적으로 가장 높은 사망원인 중의 하나이며, 사망률이 계속 증가하고 있다.
- **(암환자의 삶의 질 향상에 대한 요구 증가)** 현재 사용되는 3대 암치료 방법(수술, 화학요법, 방사선 요법)은 정상조직 손상으로 인한 환자의 고통증가, 입원 또는 통원 치료의 불편함으로 인하여 암환자의 삶의 질이 떨어지고 있다.
- **(새로운 개념의 암치료 기술에 대한 기대 증가)** 웨어러블 기술과 나노 기술의 발달로 새로운 개념의 암치료 방법에 대한 연구가 증가하고 있고, 저가, 비침습, 휴대 가능한 치료방법을 통해서 환자가 고통 없이 일상 생활하는 것 가능하다.
- **(전기장 치료기기 개발 주도권 확보)** 전기장 치료기기는 암환자의 삶의 질을 개선할 수 있다며 뇌종양에 대해서 FDA 승인이 이루어졌으나 아직까지는 전 세계적으로 실용 상용화를 위한 파괴적 혁신 (disruptive innovation) 연구 기술 개발 필요하다. 전기장 치료기 플랫폼 기술을 습득하고 전기장 치료기기의 유효성 평가를 수행하면서 전기장 암치료에 관한 메카니즘을 이해하려는 연구를 수행한다. 이를 통해서 전기장 암치료시 영향을 미치는 전기장 치료기기의 플랫폼 요소 기술을 알아보고 시작품 제작시 이를 반영하여 기기의 휴대 편의성, 사용자 편의성, 치료효과를 개선한다.
- **(과제 규모의 한계)** 개발된 플랫폼이 실질적인 의료기기로 이용되기 위해서는 의료기기 인증 및 대규모 임상테스트가 필요하며, 이를 위해서는 지속적인 시간과 재원이 요구된다. 이번 연구개발과제에서는 전기장 치료기기 하드웨어 시작품을 제작하고, 세포, 동물 수준에서 기기의 유효성 검증에 초점을 맞추고자 한다.
- **(원천 기술 확보)** 전기장 암치료 효과를 높이기 위한 치료술 개발에 대한 연구도 수행한다. 전통적인 항암치료 병행 도입시 전기장 치료 효과를 높일 수 있는 최적의 조건을 알아본다. 특히 나노 프로브를 도입하여 암이 존재하는 국소적인 부분에만 전기장을 증강시켜 전기장 암치료 효과를 높인다.

# II. 연구 내용 및 범위

- 최종목표

구분	내용
최종목표	생체 조직에 콘덴서형 AC 전기장을 인가하여 암세포의 분열을 억제하고 괴사를 유도하는 전기장 치료기기의 원천 기술 확보하고, 이를 통해서 전기장 치료기 플랫폼 기술을 개발하고, 생체 유효성 평가를 통해서 개발된 치료기기의 최적화 조건을 확보한다.
세부목표	<ul style="list-style-type: none"><li>○ 전기장 치료기 플랫폼 기술</li><li>○ 웨어러블 전기장 치료기기 시제품</li><li>○ 전기장 치료기기의 생체 유효성 평가 기술</li></ul>

○ 연차별 연구개발 목표 및 내용

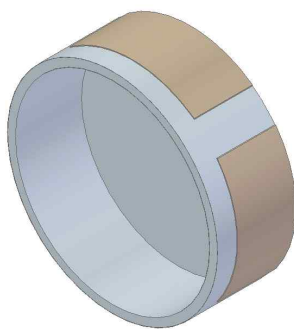
구 분	목 표	내 용
1차년도 (2018)	<ul style="list-style-type: none"> <li>전기장 치료기 플랫폼 기술 연구</li> <li>전기장 치료기기의 유효성 테스트</li> </ul>	전기장 제어 기술 개발 전기장 나노 신규작용점 발굴 전기장 치료기기 플랫폼 제작 기술 암세포 및 정상 세포 활용 항암효능 검증
2차년도 (2019)	<ul style="list-style-type: none"> <li>웨어러블 전기장 치료기기 시제품 기술</li> <li>전기장 치료기기의 전임상 테스트</li> </ul>	생체 유효성 평가를 통한 전기장 치료기기의 최적화 인체는 전기장 치료기기 시제품 제작 및 평가 동물실험을 통한 전임상 테스트 전기장 효과 극대화 항암치료제 발굴

### III. 연구 결과

○ 전기장 치료기 플랫폼 기술 연구

1) 전기장 제어 기술 개발

- 전기장에 대한 In-Vitro 세포 유효성 실험을 수행하기 위해서 전극 표면에서 세포를 잘 성장 시킬 수 있는 접시형태의 강유전체 전극 제작을 수행하였다. 아래 그림은 In-Vitro 형 전기장 치료기기의 전극 모양입니다. 세포를 담지 할 수 있도록 접시형태로 전극 모양을 설계하였고, 접시형 전극 표면 전체에 효과적으로 전기장을 인가하기 위해서 2쌍의 서로 다른 위상차를 가지는 전압을 인가할 수 있도록 제작하였다.



<접시형 강유전 전극 설계>

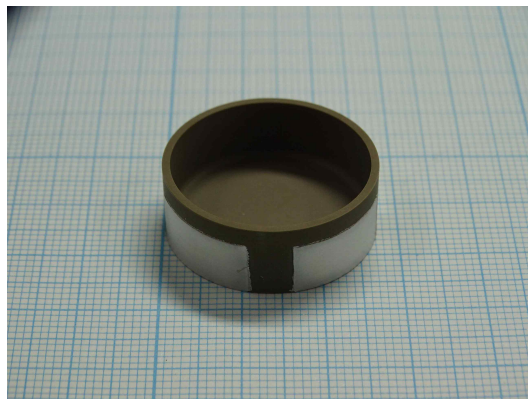
- 효과적으로 전기장을 세포에 인가하기 위해서 유전상수가 높은 PMN-PT [ $Pb(M_xNb_y)O_3-PbTiO_3$ ]를 전극 재료로 활용하였다. 특히 고상 단결정 성장방법을 이용하여 비교적 크기가 PMN-PT 판을 만들고 가공하여 접시형 강유전 전극을 제작하였고, 이는 분말상태의 PMN-PT 가루를 가열하여 제작한 강유전 전극보다 암세포 억제에 효

과적인 전기장을 발생하였다. 아래 그림은 제작된 접시형 강유전 전극의 모양입니다. 왼쪽은 다결정 PMN-PT성분 접시형 강유전 전극이고 오른쪽은 단결정 PMN-PT성분 접시형 강유전 전극입니다.



<왼쪽: 다결정 PMN-PT성분 접시형 강유전 전극, 오른쪽: 단결정 PMN-PT성분 접시형 강유전 전극>

- 보다 저전력에 암세포 억제에 효과적인 전기장 치료기 전극을 제작하기 위해서 PMN-PT 전극에 Mn 성분을 첨가하여 새로운 전극을 제작하였다. 아래 그림은 새롭게 제작된 CSL1-M1의 전극 사진이다. 망간 성분의 양이 증가할수록 이전 PMN-PT 전극에 비해서 조금 진한 초록색으로 변화되는 것을 관찰 할 수 있었다.



<CSL1-M1 접시형 강유전 전극>

- 이전 PMN-PT성분 접시형 강유전 전극 (CSL) 에 비해서 CSL1-M1 접시형 강유전 전극은 전력량이 줄어들 뿐만 아니라 암세포 억제 효과도 더 많이 억제됨을 세포 유효성 실험을 통해서 확인하였다. 아래 그림은 같은 조건에서 전극 사이에 걸린 전류와 전압 세기를 확인한 사진입니다. 새롭게 개발된 CSL1-M1 접시형 강유전 전극이 전력량을 줄여 드는 것을 확인하였다.



<CSL와 CSL-M1의 전기적 특성 비교>

- 동물 전임상을 위한 전극 제작을 위해서 앞서 선택된 CSL-M1 전극 재료를 지름 1 cm인 동전 모양의 전극으로 제작하였다.



<포장된 동물 전임상용 강유전 전극 재료>

2) 전기장 나노 신규작용점 발굴

가. 고유전상수값을 갖는 나노프로브 합성 및 특성 평가

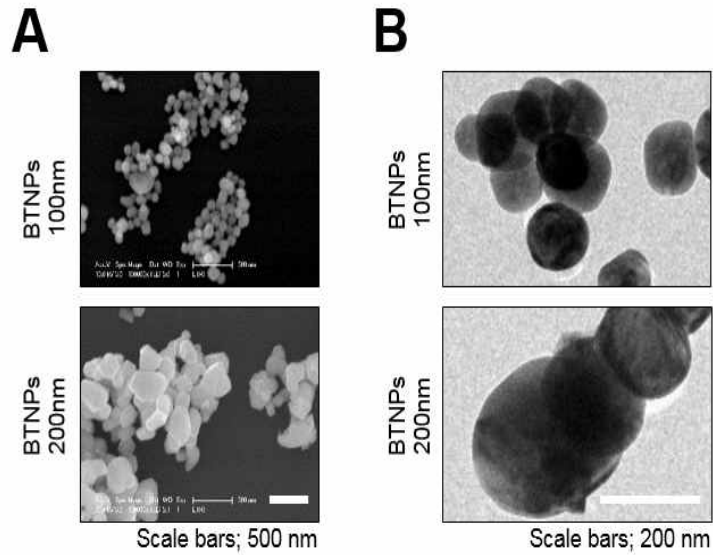
- 높은 유전 상수값을 가지면서도 세포 독성이 적은 물질 BaTiO<sub>3</sub> 나노입자를 전기장 치료효과를 증진시키는 대조작용제로 선택하였다.

- TiO<sub>2</sub> 나노입자를 만든 후 Ba<sup>2+</sup> 전구체가 포함된 용액을 넣고 용매열 반응을 가하면 비교적 쉽고 간단하게 대량의 BaTiO<sub>3</sub> nanocube 합성이 가능하였다.

- BaTiO<sub>3</sub> nanocube 성장 시간과 전구체의 농도를 조절하면 BaTiO<sub>3</sub> nanocube 크기가 조절이 가능하다.

- 나노입자의 크기와 모양을 SEM(Scanning Electron Microscopy)와 TEM(Transmission Electron Microscopy)를 통해서 확인하였습니다. 아래 그림은 합성

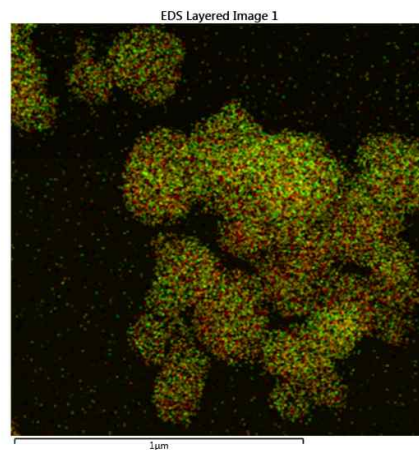
된 100nm, 200nm 크기의 BaTiO<sub>3</sub> nanocubes의 SEM와 TEM의 각각 사진들입니다.

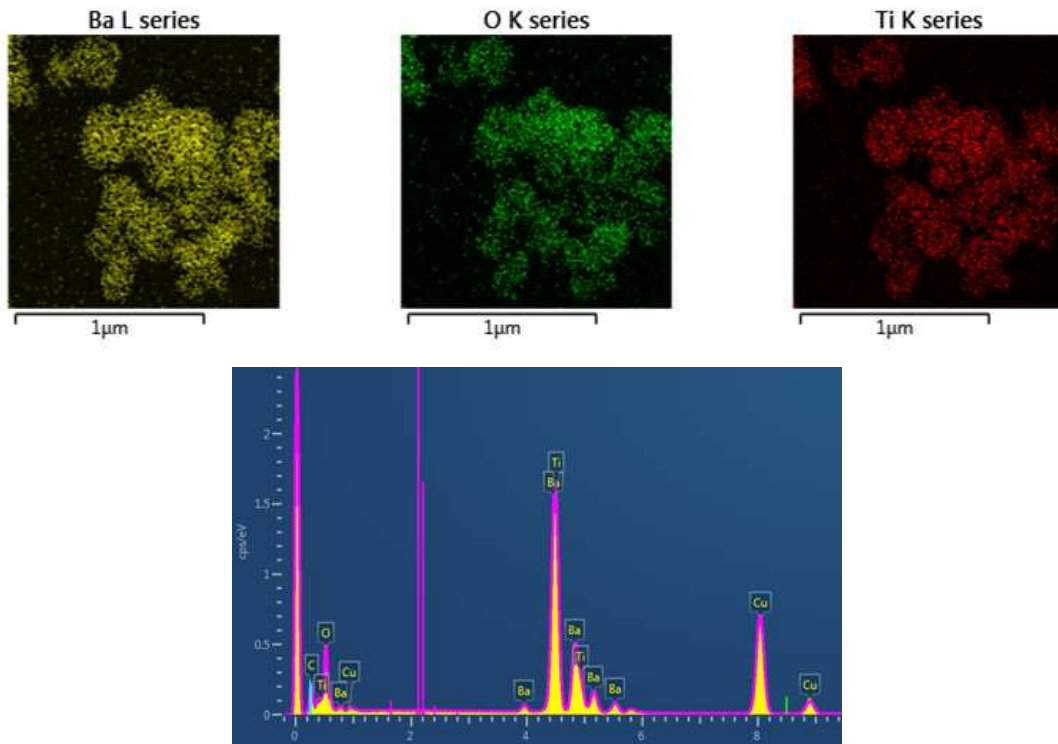


<100nm, 200nm 크기의 BaTiO<sub>3</sub> nanocubes의 SEM와 TEM의 사진들>

- 합성된 나노입자의 성분은 EDX(Energy-Dispersive X-ray spectroscopy) 분석으로 하였습니다. 아래 그림의 200nm 크기의 BaTiO<sub>3</sub> nanocubes의 EDX 성분 결과값입니다. EDX 분석을 통해서 Ba, Ti, O 성분이 입자 표면에 골고루 분포가 되어 있을 뿐만 아니라 Ba:Ti:O 비율이 1:1:3 비슷함을 통해서 간접적으로 BaTiO<sub>3</sub> nanocubes가 잘 합성됨을 확인하였습니다.

- BaTiO<sub>3</sub> nanocube의 생체 적합성을 높이기 위해서 표면에 FBS(Fetal Bovine Serum)을 코팅을 작업을 하였고, 코팅 작업 전후의 BaTiO<sub>3</sub> nanocube의 Zeta-Potential 값을 통해서 FBS 코팅 유무를 간접적으로 확인하였다.





<200nm 크기의 BaTiO<sub>3</sub> nanocubes의 EDX 분석 결과>

- 아래 그림은 DLS을 통해서 특정된 BaTiO<sub>3</sub> nanocube의 입자 크기와 표면 전위값을 표시한 표입니다. FBS 코팅 후 BaTiO<sub>3</sub> nanocube의 Zeta-Potential 값이 약한 플러스값에서 약한 마이너스값으로 변화되는 것을 통해서 표면에 FBS가 잘 코팅이 이루어졌음을 간접적으로 확인하였다. 즉 생체 적합성이 높은 고유전상수값을 가지는 나노입자 프로브가 만들어졌다.

Name	Primary size (nm)	Zeta potential (mV)	Zeta potential in vehicle (mV)
BTNPs 100nm	110 ± 35	21.4 mV ± 12.0	-14.1 mV ± 10.4
BTNPs 200nm	224 ± 63	31.5 mV ± 9.03	-14.5 mV ± 12.8

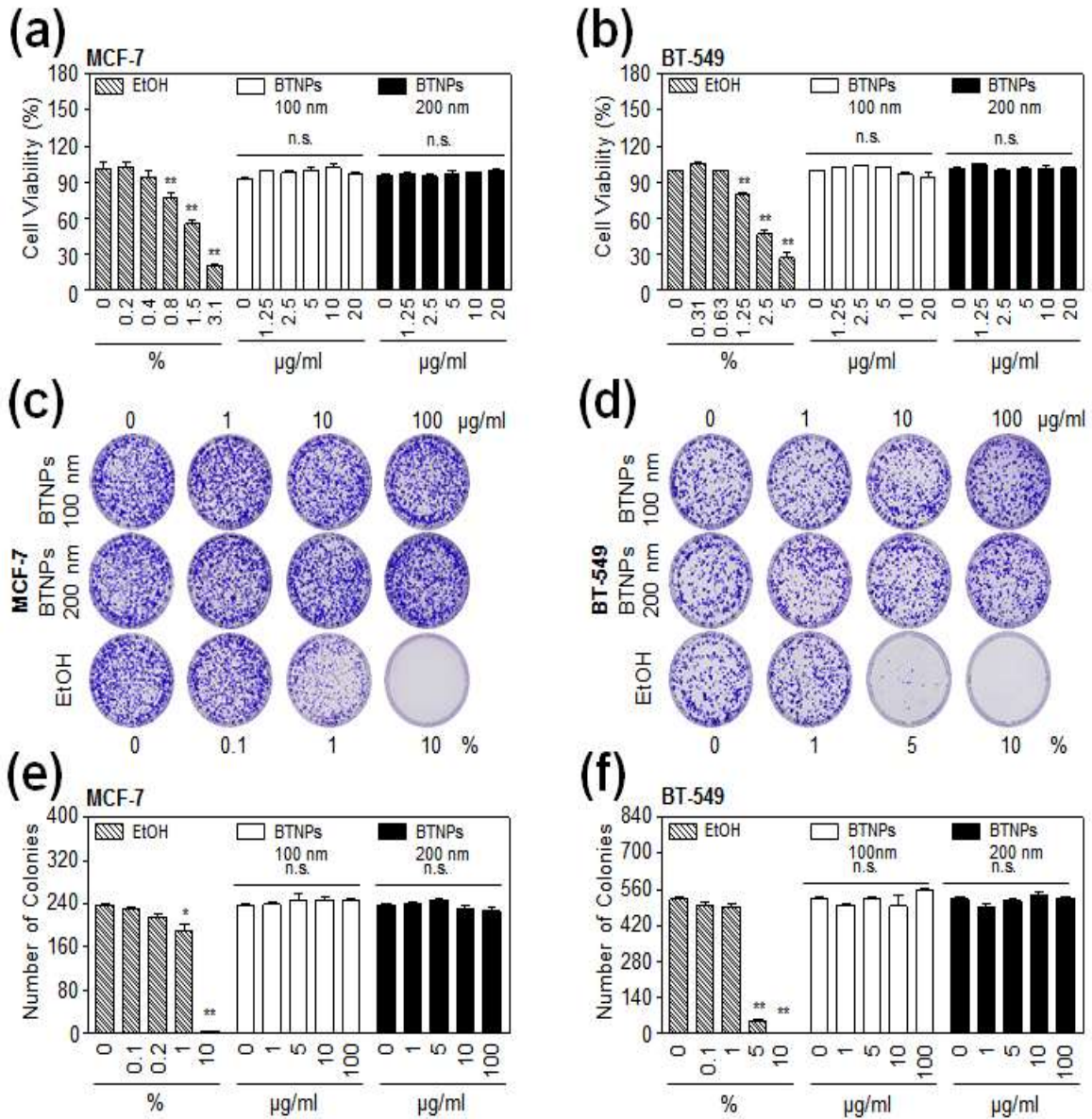
<100nm, 200nm의 BaTiO<sub>3</sub> nanocube의 DLS 측정 결과>

나. BaTiO<sub>3</sub> 나노프로브의 세포독성 *in vitro* 검증

- 합성한 나노프로브는 유방암 세포주 MCF7 및 BT549세포에 농도별로 처치하여 WST-8 시험법을 통해 세포독성을 확인하였다. 그 결과, 양성 대조군의 에탄올 농도별 처치 결과와 달리 고농도의 나노프로브 처치에도 세포의 생존률에 변화가 없었고, 또

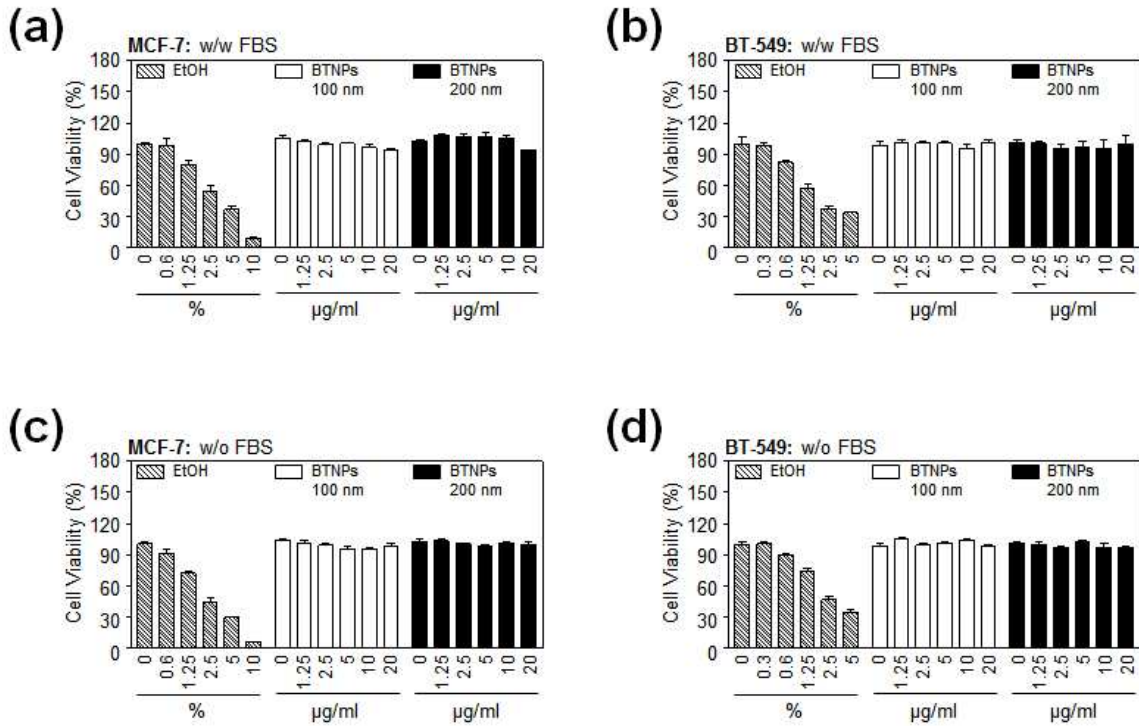


다른 세포독성 시험법으로 Clonogenic 시험법을 수행함으로써 나노프로브 단독 처리만으로는 세포독성이 나타나지 않았음을 확인하였다. (3회이상 검증 반복 확인). 아래 그림은 BaTiO<sub>3</sub> 나노프로브의 세포독성 *in vitro* 시험 결과값입니다.



<BaTiO<sub>3</sub> 나노프로브의 세포독성 *in vitro* 시험>

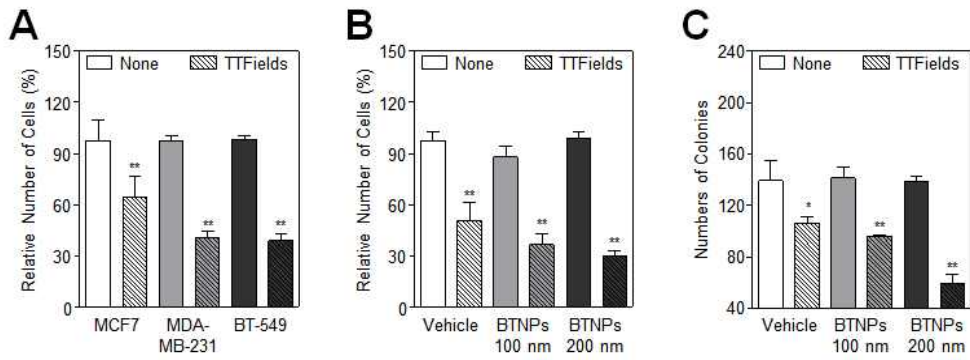
- 합성한 나노프로브의 FBS를 활용한 COATING을 하지 않은 상태에서의 세포독성 실험을 진행하였으며, FBS로 COATING을 진행하였을때와 동일하게 실험을 진행하였다. 결과적으로 COATING이 되지 않은 상태에서도 합성 나노프로브에 의해 세포독성이 없음이 2종류의 유방암세포에서 확인하였고, BTNP 나노프로브는 세포 독성은 없는 것으로 판단된다.



<BaTiO<sub>3</sub> 나노프로브의 세포독성 *in vitro* 시험>

다. 전기장 치료와 BaTiO<sub>3</sub> 나노프로브의 *in vitro* 항암효과

- 아래 그림은 고유전상수의 나노프로브가 전기장 치료기와 함께 처치 시 나타나는 항암효과를 확인하고자 처치 조건별로 단위용량당 살아있는(PI-staining negative) 세포 수를 측정(Absolute cell counting)하였다. 전기장 치료기 단독처치는 대조군에 비하여 40% 이상의 살아있는 세포 수가 감소하였고, 나노프로브의 단독처치에서는 대조군과 큰 차이 없는 비율을 보이는 반면, 동시 처치 후 살아있는 세포의 비율은 나노프로브의 사이즈별로 각각 60%, 70% 감소시켰다. Clonogenic assay 시험법을 통해 세포독성 실험을 수행한 결과, 마찬가지로 세포 군락의 수가 나노프로브 처치에 의해 감소한 것을 확인하였고, 게다가 살아있는 세포 수 측정법과 유사한 경향성을 보이며 나노프로브의 사이즈별 항암효과가 확인하였다. 200 nm 사이즈의 나노프로브의 항암효과가 더욱 두드러졌으며 3번 이상의 반복실험에서도 나노입자 크기에 따른 치료효과의 차이를 확인할 수 있었다.



**A**

MCF7					MDAMB231					BT549				
NONE		TTFIELDS			NONE		TTFIELDS			NONE		TTFIELDS		
82.31087106.4885	100	88.7599110.567550.64953	71.4529152.1238478.4549570.1999198.16801		10094.48856100.444393.7417337.75761	38.69352	56.069235.90471	35.12951101.5218101.8108	95.935	10092.79713	38.782236.8486554.1855837.71138	26.90182		

**B**

Vehicle					BTNP 100					BTNP 200							
NONE		TTFIELDS			NONE		TTFIELDS			NONE		TTFIELDS					
101.1588	100	90.90237	51.5286	60.62623	40.07643	80.43639	91.39646	92.13511	39.25049	46.47436	23.96217	95.58678	106.287	94.97041	31.54586	34.23323	23.90208

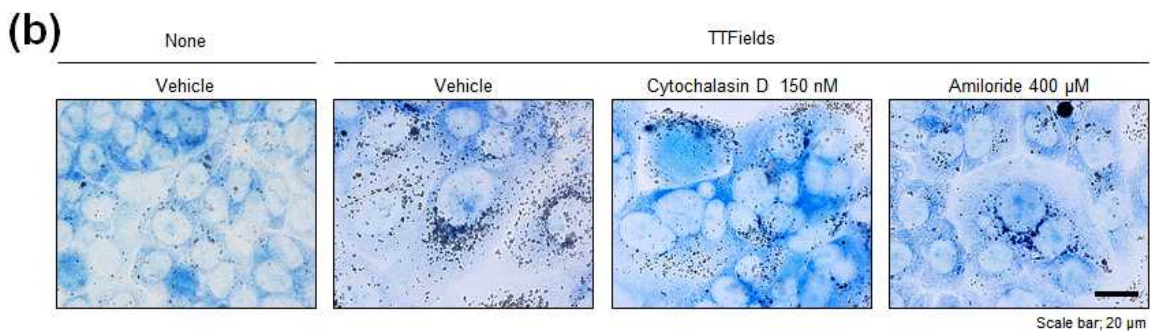
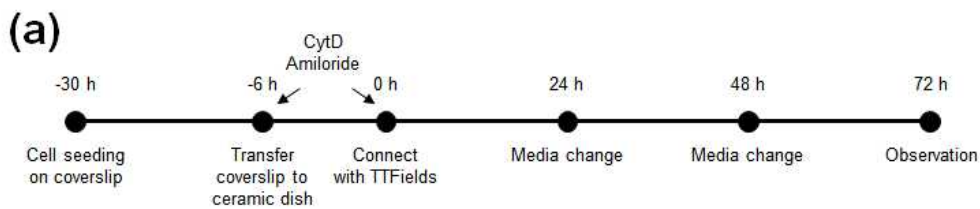
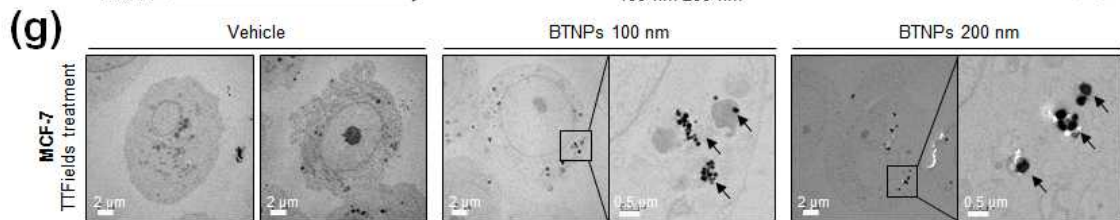
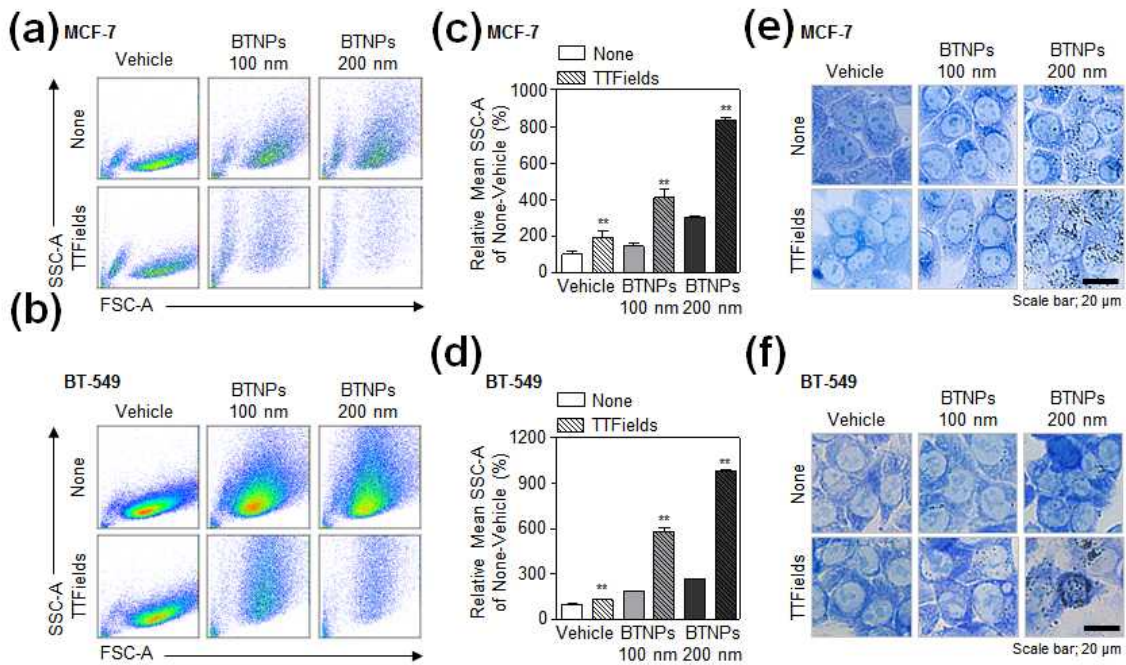
**C**

Vehicle					BTNP 100					BTNP 200							
NONE		TTFIELDS			NONE		TTFIELDS			NONE		TTFIELDS					
157	129	132	107	101	111	151	139	134	97	95	97	131	138	147	67	66	45

<전기장 치료와 BaTiO<sub>3</sub> 나노프로브 병용 처치 시 나타나는 항암효과>

라. 전기장 치료기기에 의한 나노프로브의 축적도 증가

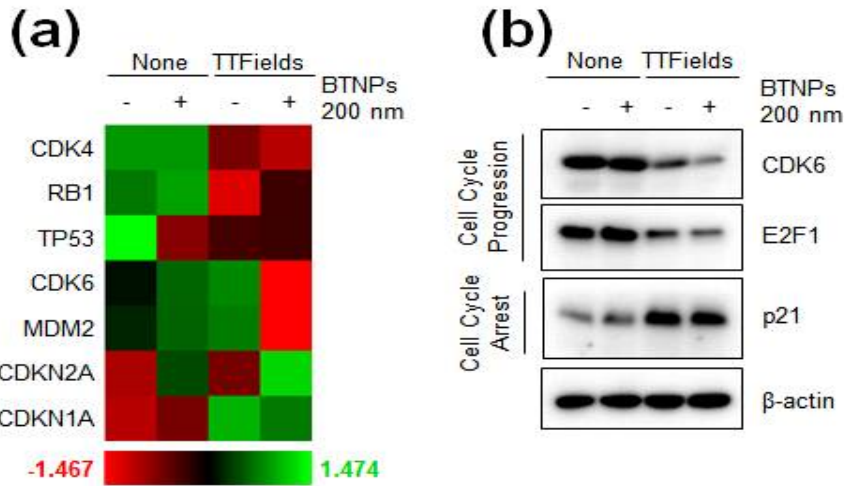
- 나노프로브와 전기장 치료기기의 병용 처치 후 유세포분석기(flow cytometry)를 통해 Forward scatter(FSC)와 Side scatter(SSC) 분석할 때 급격한 SSC의 증가를 확인하였다. 이를 통해 SSC 값은 세포의 복잡성(complexity)을 나타내는 지표로써, 나노프로브 처치에 의해 세포의 복잡성이 증가한 것으로 보아 세포내에 나노프로브의 축적이 증가하였음을 추측해 낼 수 있었고, 게다가 전기장 치료를 병행할 경우 나노프로브의 축적 정도를 상당히 증가시켰음을 확인하였다. 세포내의 나노프로브 축적 정도를 이미 크기로 확인하기 위하여 메틸렌블루 염색 후 광학현미경으로 관찰하였고, 유세포분석기 결과와 유사한 경향성으로 나노프로브는 핵을 제외한 세포질 내에 축적되어 있음이 확인되었다. 전기장 치료와 병용 시 나노프로브의 축적이 훨씬 증가하였음을 확인하였고, MCF-7 및 BT-549 2개의 세포주로 반복 측정하여 검증 완료하였다. 또한 이런 나노프로브의 축적이 일반적인 세포내 pinocytosis과정이 아님을 저해제를 처리하여 확인하였다. 그러므로 전기장의 의한 나노프로브의 축적이 항암효과에 영향을 미치고 있는 것을 간접적으로 확인하였다.



<전기장 치료기기에 의한 나노프로브의 축적도 증가>

마. 전기장 치료와 나노프로브 적용에 의한 세포주기조절 기능 평가  
 - 전기장 및 나노프로브에 의한 항암치료 효과의 증대가 어떤 효과에 의한 것 인지를 확인하기 위하여 나노스팅분석방법을 활용하여 분석한 결과 흥미롭게도 세포분열

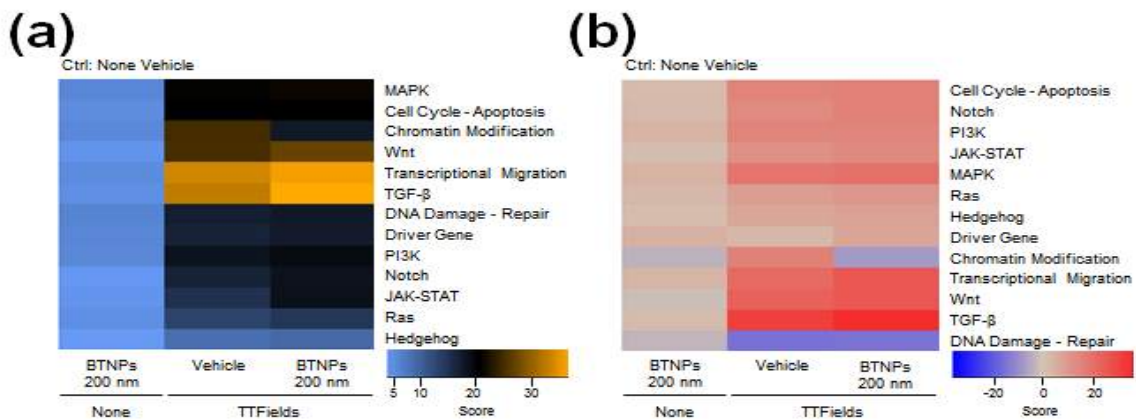
및 주기조절에 의한 유전자의 발현변화가 뚜렷함을 확인하였고, 또한 이런 변화를 단백질 분석방법인 웨스턴방법을 통한 분석에서도 cdk6, e2f1의 감소 (세포주기 억제)와 p21의 증가(세포분열 저해)등을 통하여서도 검증하였다. 따라서 전기장 치료기기 및 나노프로브의 병용치료효과는 암세포의 세포주기 억제를 통한 것임을 확인하였다.



<전기장 치료와 나노프로브 병용 치료 시 세포분열 주기 억제 기전 분석>

바. 나노프로브와 전기장 치료기기에 의한 유전적 수준의 변화

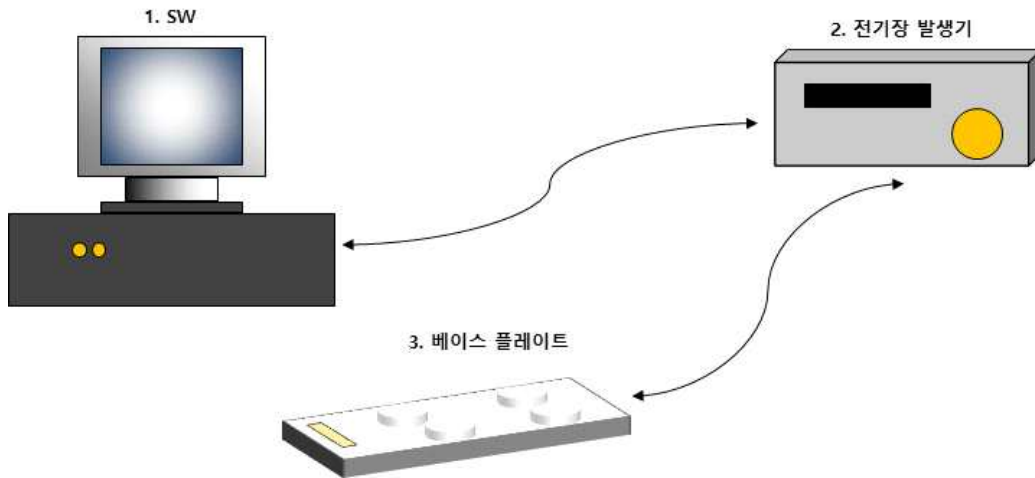
- 해당 치료법에 의한 유전적 변화를 측정하기 위해 나노스트링(Nanostring) 기기를 이용하여 700여 가지의 유전자 레벨을 확인하였다. 그 결과 전기장 치료기기에 의해 변화하는 유전적 양상을 확인할 수 있었으며 나노프로브에 의한 변화도 있음을 추측할 수 있었다. 아래 그림은 나노스트링의 결과 중 유의미한 값의 유전자만을 선택하여 히트맵(Heat map)을 그려 보았을 때 전기장 치료기기의 효과가 증대되는 현상을 확인하였다. 나노스트링 결과 값을 토대로 다각도의 분석법을 통해 나노프로브 축적에 의한 효과를 정리하고 있고, 지금까지 소포체 내에 축적된 나노프로브에 의하여 세포의 스트레스가 증가된 유전적 변화로(CREB3L1, CACBA2D2, BMP5, MMP7,I CDK6, SPRY1) 추정하고 있다.



<나노스트링을 통한 유전자 변화 양상 비교>

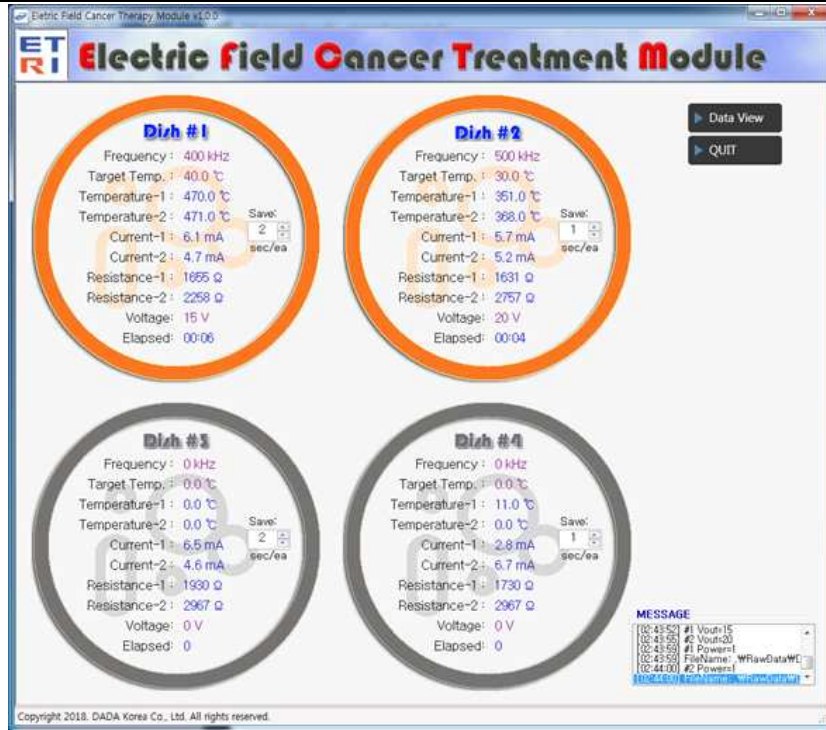
3) 전기장 치료기기 플랫폼 시작품 제작 기술

- 1차년도에서는 실험실 수준에서 다양한 종류의 암세포에 영향을 미치는 최적의 전기장 세기, 주파수를 알아보기 위한 전기장 치료기기 플랫폼을 설계하고 제작하는 과정을 수행하였다. 아래 그림은 제작하고자 하는 전기장 치료기기의 플랫폼 구성도입니다. 세포 배양 온도, 전기장의 주파수, 전압, 전류, 저항을 조절하고 측정하는 SW 컴퓨터 시스템, 50-500 KHz의 8채널 전기장을 한번에 발생할 수 있는 전기장 발생 모듈 장치, 전기장 발생 모듈 장치에서 발생한 전기장을 세포 배양 접시에 전달하는 베이스 플레이트 3가지 요소로 구성되어 있다.



<전기장 치료기기의 플랫폼 구성도>

- 4개의 독립적인 세포 유효성 실험이 하나의 화면에서 조절이 가능하도록 프로그램을 설계하였다. 전기장의 주파수, 전극 표면 온도 설정을 통해서 전기장 발생기에 나오는 전압, 전류, 저항값은 자동적으로 결정이 이루어진다. 설정이 가능한 주파수의 범위는 50-500 KHz 이고, 온도값은 20~40 °C 이다.



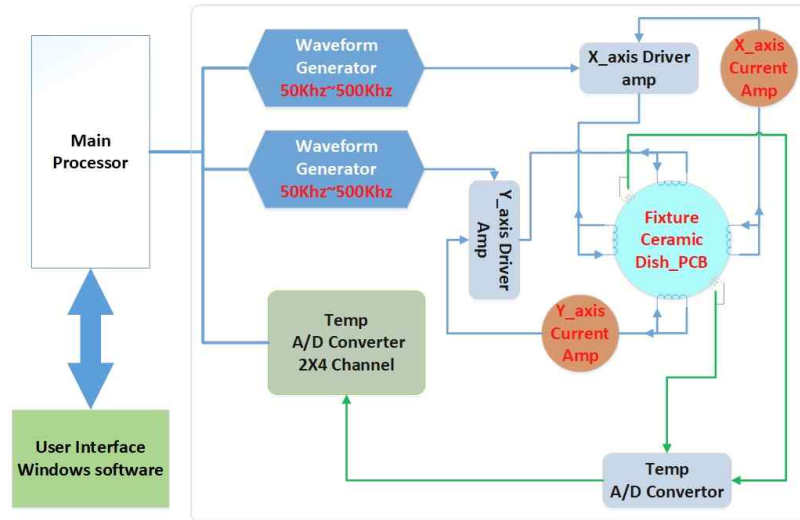
<SW의 메인 메뉴>

- 설계된 SW는 전기장 발생 요소를 조절할 뿐만 아니라 전극 표면의 전기적 특성을 측정하고 저장하여 전기장 발생기기의 작동유무를 확인할 수 있다. 특히 데이터 메뉴를 통해서 보다 효과적으로 전극에서 일어나는 전기적 특성 변화를 잘 분석할 수 있도록 설계하였다.



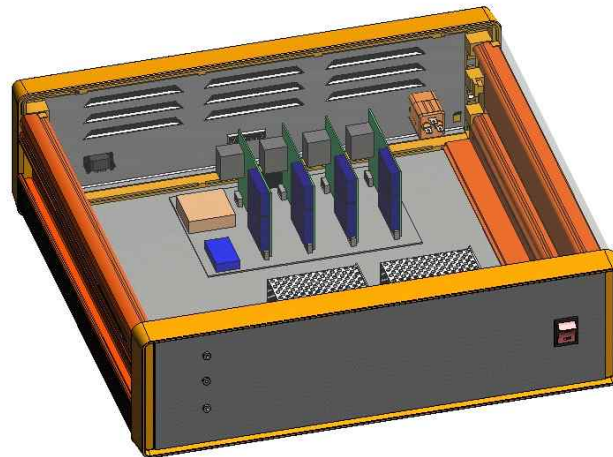
<SW의 데이터 메뉴>

- 고주파 전기장 발생기의 구성도는 아래 그림과 같다. 강유전 전극 접시 PCB에 위치한 온도 센서를 통해서 고주파 전기장 발생기의 세기가 조절되도록 설계하였다.



<고주파 전기장 발생기의 구성도>

- 하나의 메인보드에 8개의 고주파 전원 발생 보드를 병렬로 연결하여 전기장 발생 모듈을 구성하였다.



<예상되는 고주파 전기장 발생기의 1차 모식도>





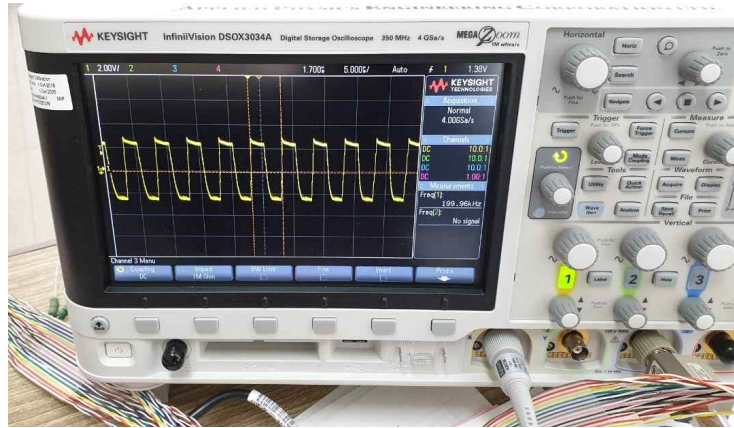
<제작된 고주파 전기장 발생기의 모습>

- 전기장을 인가할 수 있는 4개의 세포 배양용 전극이 독립적으로 작동이 가능한 베이스플레이트 모양을 설계하고 제작하였다. 아래 그림은 현재 가공 제작된 베이스 플레이트 모습입니다.



<현재 제작된 베이스플레이트의 모습>

- SW에서 설정된 전기장 특성이 베이스플레이트 전극표면까지 전달되어짐을 확인하였습니다. 아래 그림은 최종 전극에서 획득한 전기장 주파수 인가 파형 모습입니다.



<전극에서 획득한 주파수 인가 파형 >

### ○ 전기장 치료기기의 유효성 테스트

#### 1) 제작된 전기장 치료기기의 세포 유효성 평가

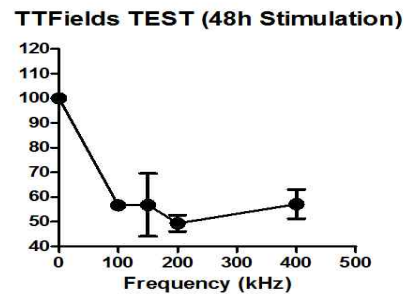
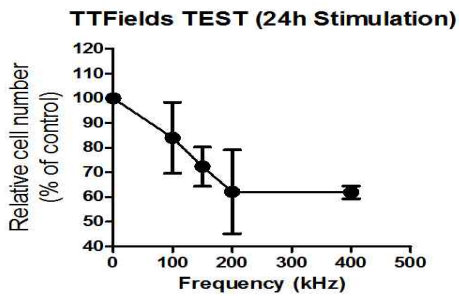
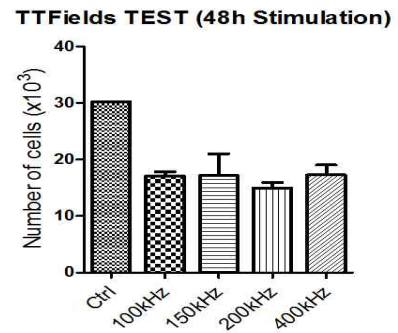
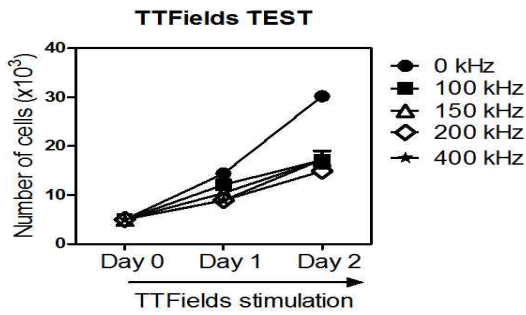
- ETRI에서 자체 제작한 세포단위 전기장 치료기기를 실사용하기 위해 아래 그림과 같이 설치하였고, Novocure사의 전기장 치료기기와 암세포 억제 효율을 비교 분석하는 연구를 수행하였다.



<자체 제작된 전기장 치료기기를 세포 실험실에 설치한 모습>

#### 2) 생체 유효성 평가를 통한 전기장 치료기기의 최적화

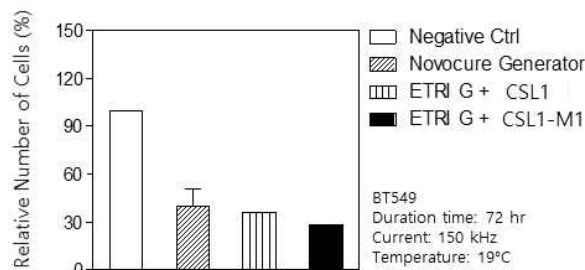
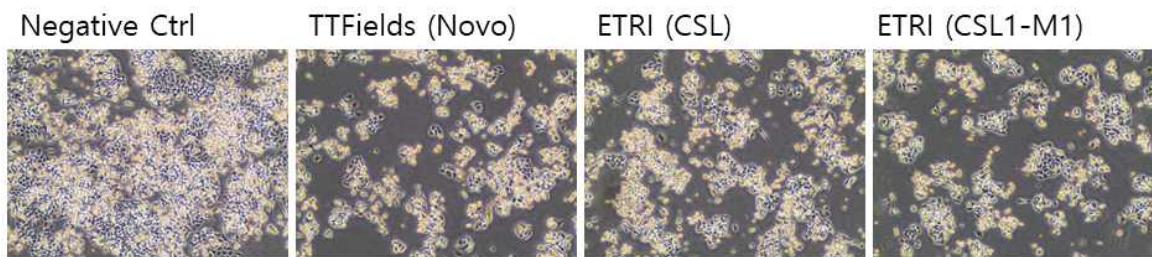
- 특히 다양한 주파수에 따른 전기장 파형에 의한 항암 치료 효능과 시간에 따른 치료 효과를 세포 유효성 기초 실험을 통해서 수행하였다. 이를 통해서 새롭게 제작된 장비의 암세포 억제에 최적화된 조건을 알아보는 기초 데이터를 획득하였다.



<ETRI 제작된 기초 실험 결과>

2) 상용화 전기장 치료기기(novocure)의 비교평가 및 항암효과 분석

- 세포내 항암분석의 경우 novocure기기의 경우 50~60%의 항암억제 기능을 보였으며 ETRI기기의 경우 60~70% 항암억제기능을 확인하였다. novocure에 비해서 약 5~10%의 항암효과가 우수한 것으로 판단되며, 비교적 안정적으로 잘 운용되는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 추후 임상 실험을 통하여 실제 전기장에 의한 항암효능이 증가되는가는 좀 더 과학적인 검증이 필요하다고 생각한다. 그리고 여전히 novocure 전극에 비해서 자체 제작한 전극의 저항값이 높음으로 인한 전력의 문제점은 개선이 필요하다.



<자체 제작된 전기장 치료기기와 상용화 전기장 치료기기의 효과 비교>

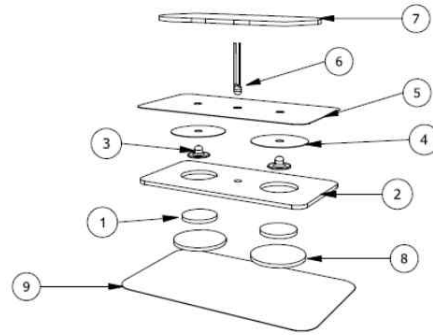
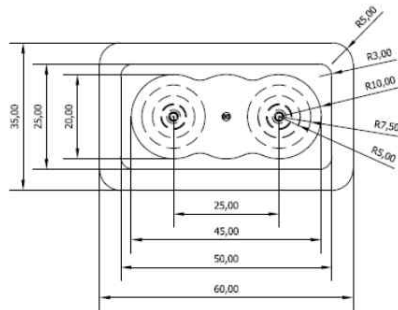
○ 웨어러블 전기장 치료기기 시작품 기술

1) 입는 전기장 치료기기 시작품 제작 및 평가

가. 웨어러블 전기장 치료기 전극 개발

- 동물 전임상용 전기장 치료기를 만들기 위해서는 동물 피부에 부착이 가능한 웨어러블 전극 개발 작업이 반드시 필요하다. 피부와 강유전 전극재료 사이에 발생하는 인피던스 차이를 줄이기 위해서 전극 표면에 하이드로젤 성분을 도입하였고, 전기장 발생에 따른 온도 상승의 생체 부작용을 최소화하기 위해서 전극 사이에 온도 센서를 도입하였다. 아래 그림은 웨어러블 전기장 치료기 전극을 설계한 도면과 전극 결선도입니다.

Qty	Part No	MATERIAL
2	-	양극재
1	PN03-001	PE Foam - A
2	PN17-006	Mitt Snap -C
2	-	온도센서 Tape
1	PN01-001	Non woven fabric-A
1	-	온도 Sensor
1	PN03-001	PE Foam - A(Cover)
2	PN02-020	Hydrogel
1	PN04-007	PIET Layer(후열/인편)



<전기장 치료기 전극 설계도>



Wire Table

CONE #1	Color	OPEN
1	White, Brown	온도센서 1번
2	Purple, Pink	온도센서 2번
3	NC	
4		
5	Blue, Sky-Blue	+전극 1번
	Black, Grey	+전극 2번
6	Red, Orange	-전극 1번
	Yellow, Green	-전극 2번

Wire Table

CONE #1	Color	OPEN
1	NC	
2		
3	Purple, Pink	온도센서 2번
4	White, Brown	온도센서 1번
5	Red, Orange	-전극 1번
	Yellow, Green	-전극 2번
6	Blue, Sky-Blue	+전극 1번
	Black, Grey	+전극 2번

<전기장 치료기 전극 결선도>

- 특히, 전기장 주파수가 100-500 KHz이기 때문에 전선과 연결부분을 고주파용 부품으로 사용하였고 아래 그림은 완성된 웨어러블 전기장 치료 전극의 최종적인 모습이다.

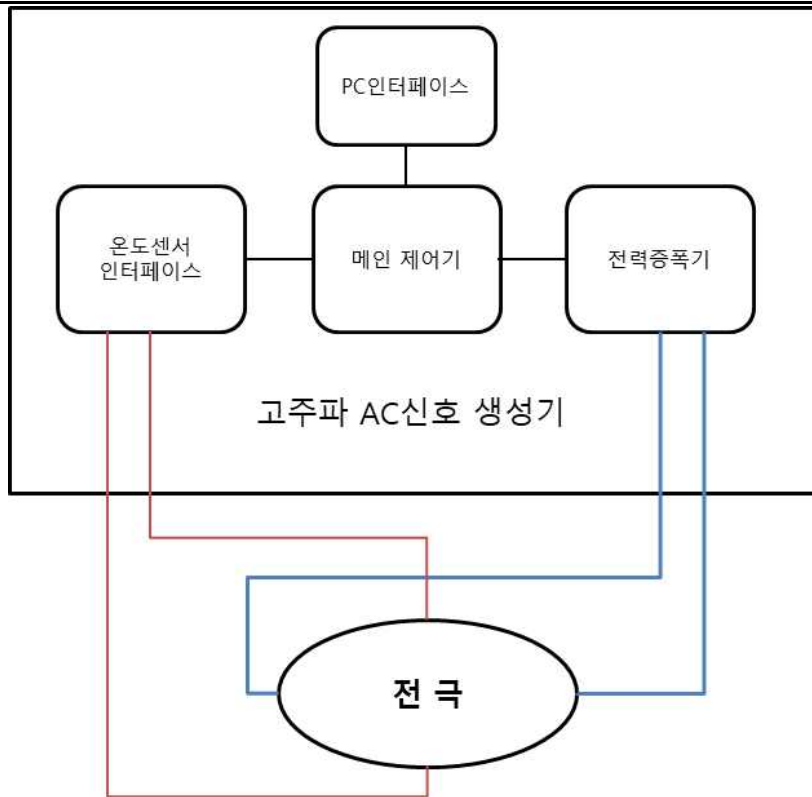


<웨어러블 전기장 치료기 전극 모습>

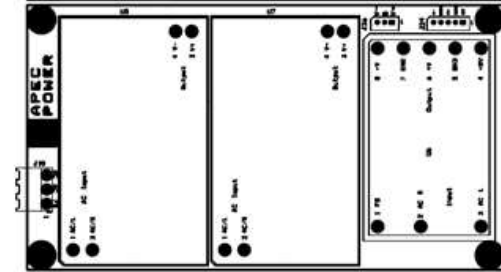
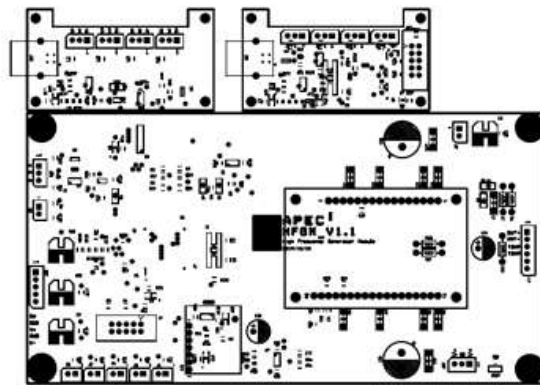
나. 소형 전기장 발생기

- 궁극적으로 휴대 가능한 전기장 발생기를 만들기 위해서 이전보다 크기가 줄어든 소형 전기장 발생기 제작이 필요하다. 특히 동물실험을 통한 다양한 전임상 테스트를 하기 위해서는 온도에 따른 전기장 세기 조절 부분, 주파수 조절과 여러 전기신호를 획득할 수 있는 PC인터페이스 부분, 그리고 새롭게 개발된 웨어러블 전극과 연결이 가능한 인터페이스 부분이 필요하다. 아래 그림은 새롭게 제작한 소형 전기장 발생기의 개념도면이다.

- 이러한 기능을 포함한 하나의 소형 전기장 발생기 PCB 모듈을 만들었고, 아래 그림은 완성된 소형 전기장 발생 PCB 모듈 도면과 사진이다.



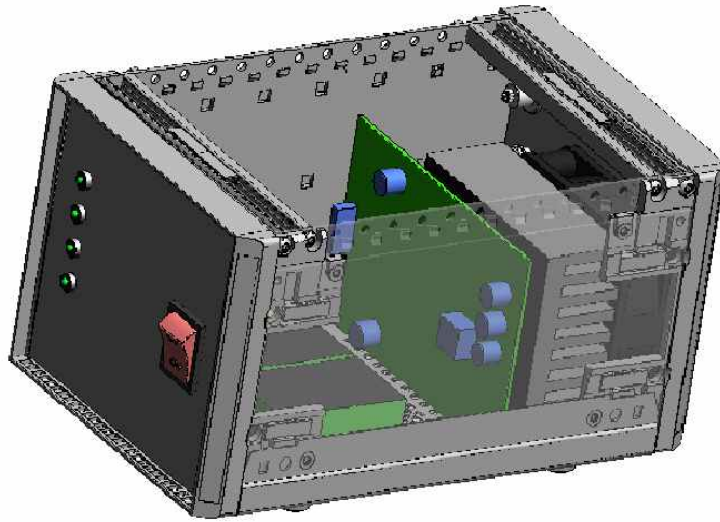
<소형 전기장 발생기의 개념도>



<소형 전기장 발생 PCB 모듈 사진과 도면>

- 아래 그림은 상용 케이스에 패키지한 소형 전기장 발생기의 3D 조립도와 사진이

다. 향후 추가적인 연구를 통해서 더욱 소형화 할 수 있는 여지가 남아 있습니다.



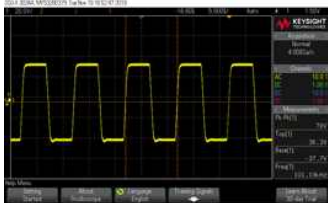
<소형 전기장 발생기 3D 조립도>

- 아래 그림은 입을 전기장 치료기기 시작품을 이용하여 동물실험을 통한 전임상 테스트를 하는 모습을 보여준다.



<입는 전기장 치료기기 시작품을 이용한 전임상 테스트 사진>

- 다양한 암종에 따른 최적의 전기장 치료 조건을 알아보기 위해서 소형 전기장 발생기가 다양한 주파수 변화가 가능해야 한다. 아래 그림은 개발된 소형 전기장 발생기의 성능을 오실로스코프로 확인한 사진이다. 100-500 KHz까지 다양한 주파수 변환 AC 전기장이 발생함을 확인하였다.



(100 KHz)



(200 KHz)



(300 KHz)



(400 KHz)



(500 KHz)

<소형 전기장 발생기의 성능 평가>

○ 전기장 치료기기의 전임상 테스트

1) 동물실험을 통한 전임상 테스트

- 동물유효성 실험을 위하여 동물실험계획서 및 동물실험관련 프로토콜을 작성하여 진행하였으며, 본 실험은 짧은 위탁기간 및 동물용 전기장 기기의 제작지연으로 인하여 추후 실험을 진행할 예정입니다. 아래 그림은 동물생명윤리심의위원회(IRB)가 승인한 전기장 치료기기의 동물실험계획 승인서입니다.



동물실험계획 승인서

1. 연구책임자

이름	소속	직위	전화번호	교육이수내용
김재성	방사선암연구부	선임연구원	02-970-1669	경부주관교육 KIRAMS 18-008

2. 동물실험계획서

접수번호	kirams2019-0077
과제명	전기장 치료기기에 의한 종양감소 확인 및 전기장 증폭제제 후보체를 적용한 병용치료 가능성 연구
동물실험수행자	윤이나, 최민호, 권영주, 강민성
실험기간	2019-11-04~2020-11-03
사용 동물종 및 마리수	Mouse BALB/c-nude : 250마리 Mouse C57BL/6 : 250마리
동물이 경험하는 통증 및 스트레스의 정도	고통등급 E : 척추동물에 대상으로 극심한 고통이나 억압을 동반하는 실험

3. 승인사항

심의일자	2019-10-28
승인일자	2019-10-28
승인번호	kirams2019-0077
심의위원 의견	실험동물센터 운영규정에 따라, 1. 개인 연구자가 최대 사육할 수 있는 마우스 마리 수는 마우스 200마리 미만(40 케이지 미만)으로 제한됩니다. 2. 동물실험 중 마약류(항정신성의약품 포함)을 사용해야 하는 경우, '마약류 의약품의 사용절차'에 따라 마약류취급 학술연구자로 허가받은 후 사용이 가능합니다. 3. 일반대중이 이용할 수 있는 인체 유래 세포주를 이용한 연구는 IRB 심의 면제에 해당됩니다. 심의면제의 결정은 IRB에서 확인해야 합니다. IRB 심의를 권고합니다.

한국원자력연구원 동물실험윤리위원회에서는 상기의 동물실험계획을 승인합니다.

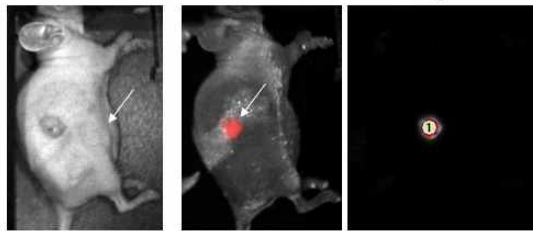
2019년 10월 28일

한국원자력연구원 동물실험윤리위원회



<전기장 치료기기의 동물실험계획 승인서>

*In vivo* fluorescence imaging & quantification  
in MDA-MB-231-HER2 tumor bearing mice



ROI_Number	Total_Signal_(x10 <sup>6</sup> _phot/cm2/s)	Avg_Signal_(x10 <sup>6</sup> _phot/cm2/s)
1	4996800.0	15615.00



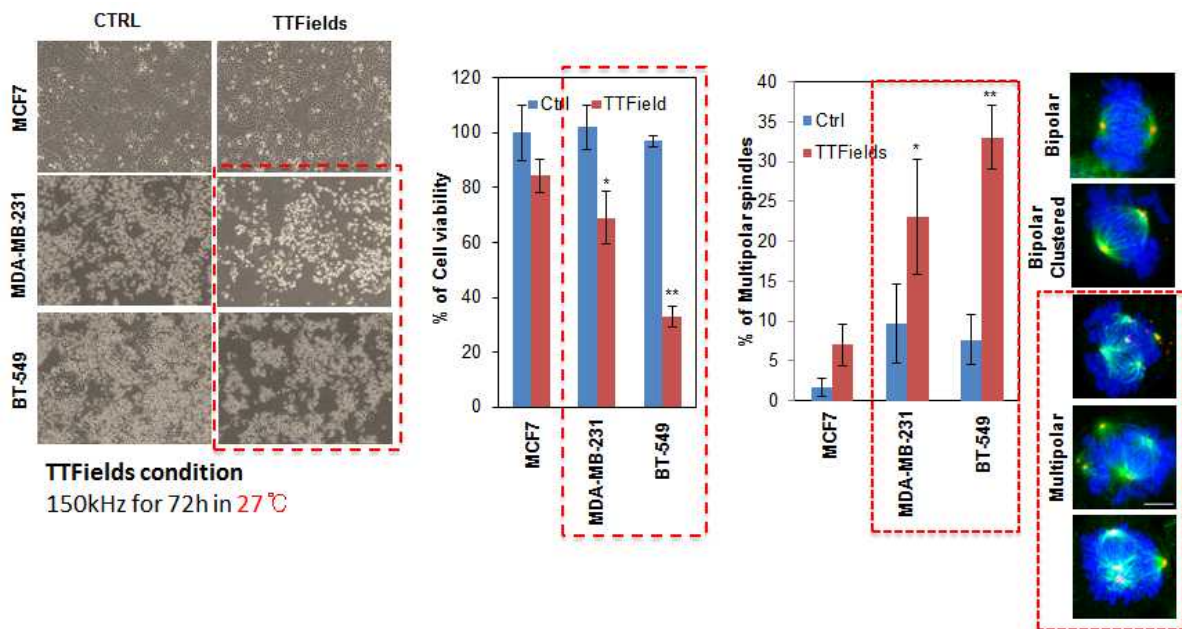
<전기장 치료기기 전임상 동물모델 구축>

- 이를 위해서 예비실험으로 유방암세포 및 폐암유도 마우스를 제작하였으며, 본 동물모델을 활용하여 전기장 치료기기의 연결문제 및 동물의 이동성(이동시 불편하지 않게 옷 제작이 필요)등을 위한 예비 실험을 진행하였다. 윗 그림은 전기장 치료기기 전 임상 동물모델 구축 사진을 보여준다.

## 2) 전기장 효과극대화 항암치료제 발굴

### 가. 전기장 치료기기의 암세포에 따른 민감도 비교연구

- 전기장치료기기의 새로운 작용점을 탐색하기위해 세포분열속도가 다른 유방암세포를 활용하여 전기장치료기기에 반응하는 항암억제정도를 확인 검증하였다. 본 연구에서 흥미롭게도 분열속도가 빠른 악성의 암세포인 MDA-MB231세포와 BT549세포의 경우 악성도가 낮은 MCF7에 비해서 전기장 치료기기에 세포분열 및 세포사멸이 증가되어 있음을 확인하였다. 또한 이런 전기장 치료기기의 반응성은 암세포 분열 중심체 응축 조절에 의해 일어날 수 있음을 확인하였다. 따라서 이는 전기장 치료기기의 새로운 치료기전으로서 암세포의 분열중심체 응축조절이 중요함을 의미한다.

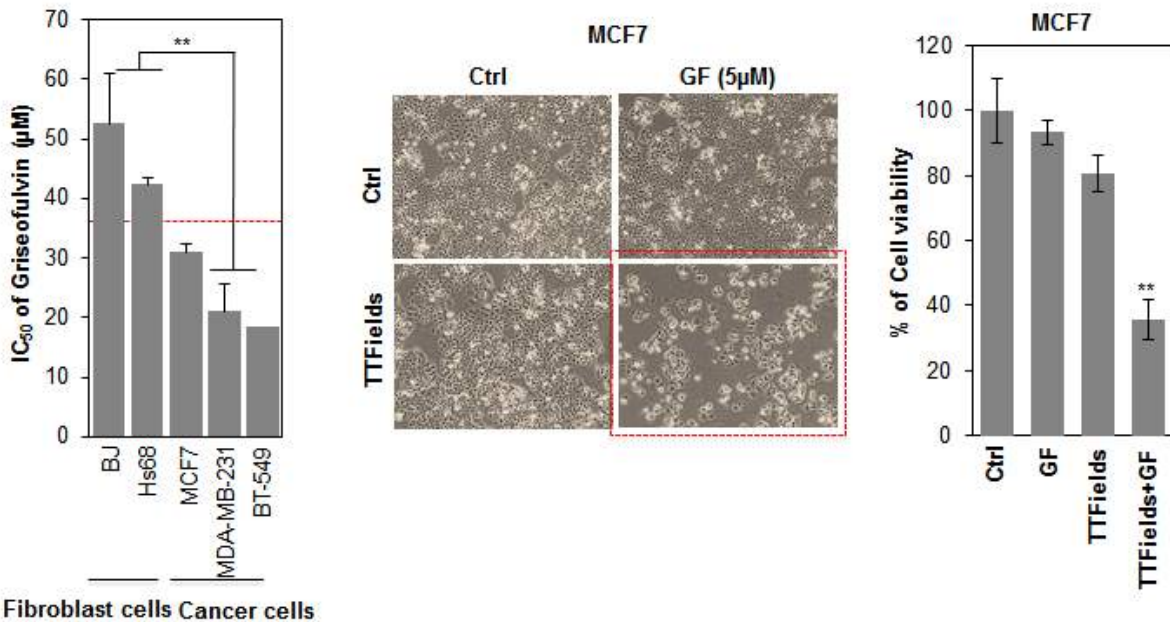


### <전기장 치료기기의 암세포에 따른 민감도 차이 연구>

#### 나. 전기장 치료기기와 중심체 응축 억제제에 의한 시너지 효과

- 전기장에 의한 암세포 억제기능의 신규작용점으로 전기장과 중심체 응축 (centrosome clustering) 정도에 따른 항암효과의 정도를 확인하였다. 삼중음성 유방암 세포주 MDA-MB-231는 상대적으로 세포주 MCF7에 비하여 중심체의 수가 2개를 초과하는 세포의 수가 많고, 그로 인해 중심체 응축 현상이 많이 나타나는 세포주로 알려져 있다(Ganem *et al.*, *Nature*, 2010). Griseofulvin(GF)는 항진균제로 알려져 있으나

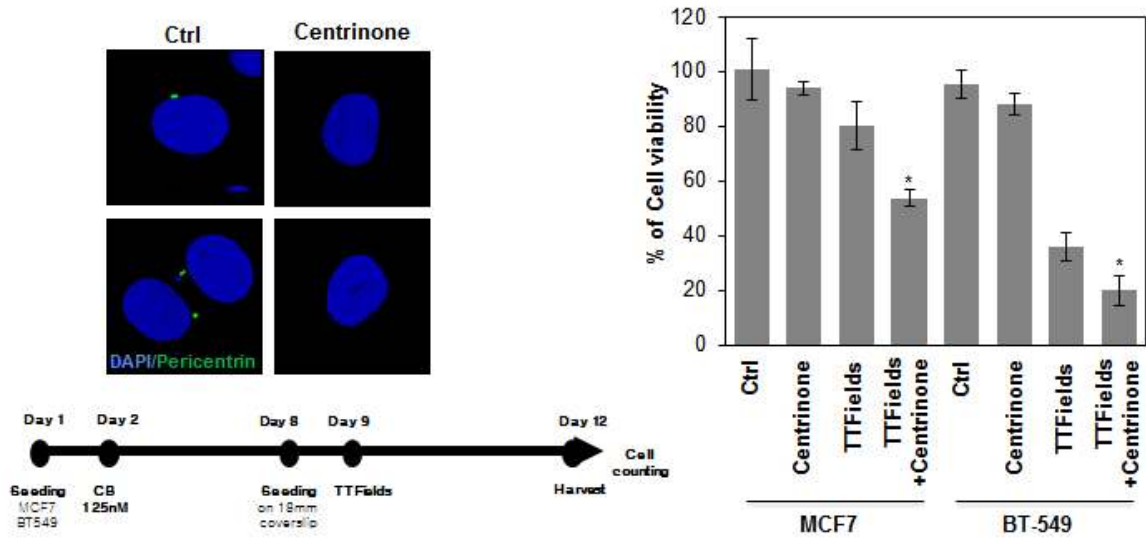
중심체 응축 억제제의 역할이 알려진 바 있다(Rebacz *et al.*, *Cancer Research*, 2007). GF 처치에 대한 전기장 치료를 병행효과를 전기장 치료치료저항성 세포인 MCF7 세포주에서 높은 시너지 효과를 보여 주었다. GF 처치 및 전기장 치료의 병행으로 인해 두 세포 주 모두에서 살아있는 세포 수가 대조군 대비 1/5 이상의 감소를 확인하였고, 따라서 전기장 치료기기는 중심체 응축 억제제의 효과를 증가시키는 것으로 판단된다.



<중심체 응축 억제제에 의한 전기장 치료 시너지 효과>

다. 전기장 치료기기와 중심체 생성 단백질 억제제에 의한 시너지 효과

- 이번에는 주요한 중심체 생성 단백질로 알려진 PLK4를 억제하는 PLK4 억제제 Centrinone B를 처치함으로써 이에 대한 전기장 치료기기와 항암효과를 평가하였습니다. 억제제 단독 처치만으로는 살아있는 세포의 수가 큰 변화가 없었던 반면, 전기장 치료가 병행되었을 때 1.7배 이상의 살아있는 세포 수의 감소를 보입니다. 따라서 전기장 치료기기는 중심체 관련 억제제와 시너지 효과를 보이는 것으로 재차 확인되었습니다.



<중심체 생성 단백질 억제제 처치에 의한 전기장 치료 시너지 효과>

## IV. 연구 개발 결과의 활용 계획

- **(대체 암 치료 기술 분야)** 기존 암 치료 기술로서 치료효과가 높지 않았던 뇌종양과 같은 사망률이 높은 암환자에 대해서 전기장 치료기는 치료효과를 높일 수 있을 뿐만 아니라 환자의 삶의 질을 향상시켜 대체 암 치료 기술 분야에 활용 가능하다.
- **(웨어러블 의료기기 분야)** 휴대 가능한 간단한 전자부품을 활용한 전기장 치료기기는 암 뿐만 아니라 정신건강과 같은 다양한 질병을 치료하기 위한 웨어러블 의료기기 개발 분야에 활용 가능하다.
- **(원천 기술 분야)** 생명의 전기적 특성에 관한 지식을 통해서 인체의 통증, 치료, 성장, 의식, 생명 자체의 본성에 대한 근본적인 통찰에 도움이 된다.

## II. 기대성과 및 건의

- **(대형 과제를 위한 기초 자료 활용)** 입는 전기장 치료기기는 새로운 분야이며 최근 전기장을 활용한 우울증 치료기와 같은 의료기기가 실험 및 상용화 단계에 있다. 본 과제는 전기장 치료기기의 관련 기초 기술 획득에 도움을 주었으며, 향후 암 치료기기뿐만 아니라 다른 의료기기에도 응용될 수 있는 잠재성이 커 추후 대형과제 기획을 위한 기초 자료로 활용이 될 것으로 생각합니다.
- **(기술 수준 향상)** 자체 개발한 전기장 치료기기의 생체 항암 유효성 검증 실험을 통해서 세포 및 동물조직에서의 항암효과 30% 이상 확인하였고, 전기장 치료기기의 신규작용점 발굴로 통해서 원천 특허/국제논문을 획득하였다.