



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년09월03일
(11) 등록번호 10-1297815
(24) 등록일자 2013년08월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 49/12 (2006.01) A61K 49/10 (2006.01)

A61K 47/04 (2006.01) A61B 5/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0114925

(22) 출원일자 2010년11월18일

심사청구일자 2010년11월18일

(65) 공개번호 10-2012-0053682

(43) 공개일자 2012년05월29일

(56) 선행기술조사문헌

Melancon, Marites P. et al., Development of a Macromolecular Dual-Modality MR-Optical Imaging for Sentinel Lymph Node Mapping. Invest Radiol., 2007, vol.42, no.8, pp.569-578.*

YAKUGAKU ZASSHI, Efficacy and safety of poly (γ -glutamic acid) based nanopartilces as vaccine carrier. 128(11), p. 1559-1565, 2008

Murawa, D. et al., Sentinel lymph node biopsy in breast cancer. British journal of surgery, 96, p. 1289-1294, 2009

KR1020090008838 A

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

국민대학교산학협력단

서울특별시 성북구 정릉로 77 (정릉동, 국민대학교)

주식회사 바이오리더스

대전광역시 유성구 테크노로 13 (용산동)

(72) 발명자

성문희

대전광역시 유성구 유성대로736번길 62, 902호 (장대동, 갤러리빌2)

임용택

대전광역시 대덕구 계족산로 135, 선비마을아파트 409동 1502호 (송촌동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이처영

전체 청구항 수 : 총 2 항

심사관 : 김은희

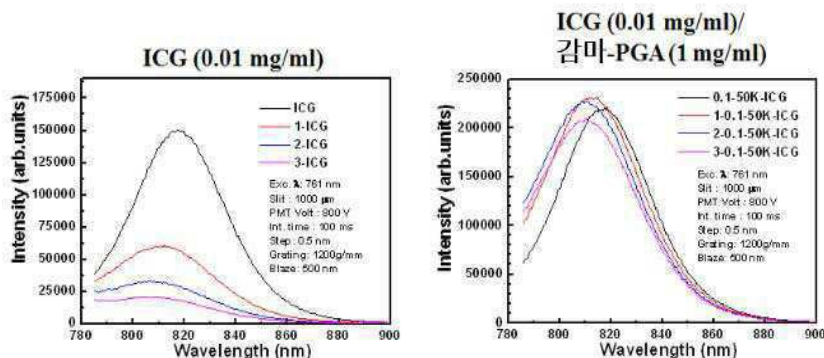
(54) 발명의 명칭 폴리감마글루탐산과 광학영상다이의 복합체를 함유하는 센티넬 림프노드 감지용 광학영상 프로브

(57) 요약

본 발명은 폴리감마글루탐산과 광학영상다이의 복합체를 함유하는 센티넬 림프노드 감지용 광학영상 프로브에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 생체 피하 주입시 센티넬 림프노드에서 비교적 장시간 머물면서, 다른 림프노드로의 이동이 적은 폴리감마글루탐산과 광학형광다이의 복합체를 함유하는 센티넬 림프노드 감지용 광학영상 프로브에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 기존의 방사능 의약품을 사용하지 않고, 생체에 안전한 폴리감마글루탐산과 형광다이의 복합체를 사용하므로, 방사능 오염의 염려 없이, 센티넬 림프노드의 위치를 실시간으로 정확하게 감지할 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

노영욱

대전광역시 유성구 봉산로 39, 송강마을2단지 205
동 509호 (송강동)

이일한

대전광역시 유성구 배울2로 6, 대덕테크노밸리1단
지 107동 603호 (관평동)

특허청구의 범위

청구항 1

폴리감마글루탐산과 광학영상다이의 복합체를 함유하는 센티넬 림프노드 검진용 광학영상 프로브에 있어서, 광학영상다이는 인도시아닌 그린(ICG)이며 폴리감마글루탐산과 인도시아닌 그린(ICG)의 복합체는 화학적 결합없이 구성된 것을 특징으로 하는 센티넬 림프노드 검진용 광학영상 프로브.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

제1항에 있어서, 폴리감마글루탐산은 10~15000kDa인 것을 특징으로 하는 광학영상 프로브.

명 세 서

기술분야

[0001] 본 발명은 폴리감마글루탐산과 광학영상다이의 복합체를 함유하는 센티넬 림프노드 검진용 광학영상 프로브에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 생체 피하 주입시 센티넬 림프노드에서 비교적 장시간 머물면서, 다른 림프노드로의 이동이 적은 폴리감마글루탐산과 광학형광다이의 복합체를 함유하는 센티넬 림프노드 검진용 광학영상 프로브에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 센티넬 림프노드란 해부학적으로는 일차 암 조직으로부터 림프관을 따라 최초로 유입되는 림프절로 정의할 수 있는데, 센티넬 림프노드를 검사하여, 암세포를 검사하여 양성 또는 악성을 판정하면, 기타 다른 림프절로의 전이유무를 알아낼 수 있다. 따라서, 센티넬 림프노드에 암 세포가 전이되어 있는지를 알면 남아있는 다른 림프노드 상태도 예견할 수 있다.

[0003] 즉, 센티넬 림프노드에 암세포가 없다면 나머지 림프노드에도 암 세포가 없다고 볼 수 있다. 이러한 센티넬 림프노드를 찾아내는 방법으로, 수술시 시각적인 도움을 받기 위해 아이소설판 블루다이 (isosulfan blue dye, Lymphazurin 1%, Ben Venue Lab., Inc., USA)를 이용하는 방법과 수술 전에 technetium-99m colloid albumin을 환자에게 주입 후, Neoprobe1500(Neoprobe Corp,USA)과 방사선 핵을 탐색하는 hand-held gamma probe를 이용하는 방법이 있는데, 이 두 가지를 병용하면 센티넬 림프노드를 거의 100% 까지 찾을 수 있어, 센티넬 림프노드를 찾고 이를 통해 다른 림프노드로의 전이를 예측하는 수술적 기법이 점점 보편화 되고 있다.

[0004] 표제성 암의 경우에는 흑색종이나 유방암에서와 마찬가지로 센티넬 림프노드를 찾아 이를 수술적으로 적용하게 되면, 불필요한 림프노드 절제를 피할 수 있다. 일측 또는 양측 임파선 절제술을 포함하여, 국소 광범위 절제술 또는 근치적 외음부 절제술의 시행은 외음부 암 환자에서 시행되고 있는 고식적 수술법인데, 이는 수술 후 창상파괴(wound breakdown), 임파부종, 임파종 등의 후유증이 흔하게 동반되어, 비록 수술이 성공해도, 환자의

삶의 질 관점에서는 바람직하지 않다.

[0005] 그러나 센티넬 림프노드를 찾아, 이의 동결생검(frozen biopsy)을 통해 다른 림프노드로의 전이 유무를 예측한 후, 만일 동결생검 결과가 양성(benign)일 경우, 센티넬 림프노드의 절제만으로 수술을 종결할 수 있다면, 이는 외음부 암의 수술에 있어 매우 진보적인 방법이라고 할 수 있다.

[0006] 그런데, 기존에 사용되고 있는 방사선 의약품을 이용한 센티넬 림프노드 감지법은 많은 문제점을 안고 있다. 방사선 의약품으로 라벨링된 림프노드의 병리학적 검사시, 검사자 및 검사실의 오염문제, 병리학적 검사를 마친 샘플의 처리문제 등이 심각한 문제로 대두되고 있다. 무엇보다도, 환자에게 방사선에 의한 노출을 최소화할 수 있도록 핵의학적 방법이 아닌 다른 분자영상 방법을 이용하여 센티넬 림프노드를 감지하는 방법의 개발이 절실하다.

[0007] 본 발명자들은 이러한 문제점을 해결하기 위한 방안으로 생체친화성 고분자 및 생체 친화성 광학영상 프로브의 복합체를 이용하여, 효과적으로 센티넬 림프노드를 감지할 수 있는 새로운 방법을 개발하고자 하였다.

[0008] 인도시아닌 그린(Indocyanine Green, ICG)은 근적외선 영역(700-1300 nm)에서 형광 특성을 나타내는 대표적인 생체광학영상용 프로브로서, FDA로부터 인간에 사용이 허가된 유일한 근적외선 형광프로브이다. 근적외선은 가시광선에 비해서 피부투과도가 좋아, 피부층의 혈관 또는 장기 등을 보기위한 분자 영상이미지를 획득하거나, 수술과정 중 신경 또는 혈관과 같은 민감한 부분에 대한 가이드(guiding)에 적용할 수 있는 장점을 가지고 있다.

[0009] ICG 검사는 주로 간기능 검사에 사용되고 있으며, ICG를 정맥 내에 주사하여 일정시간이 지난 뒤 혈액 속에 남아 있는가를 조사하는 검사로, ICG는 혈청단백과 결합하여 간에 의해 선택적으로 흡수되고, 신장으로 배설되지 않고 담즙으로 배설되므로 혈액 내에 이 색소가 머무는 정도(정체율)나 소실률을 측정함으로써 간기능을 검사할 수 있는 방법이다. 정체율은 15분에 5% 이하가 정상치이고, 10% 이상이 남아있을 때는 간경변 등으로 인해 간기능 저하가 심하다는 것을 의미한다.

[0010] ICG는 센티넬 림프노드 감지에 연구 수준에서 사용되기도 하였으나, 그 크기가 너무 작아서 생체 내에 주입되었을 때, ICG가 센티넬 림프노드에 오래 머물러 있지 않고, 주변의 다른 림프노드로 이동해 버리는 문제점이 있다. 이러한 점은 실제 수술과정에서 암 조직 주위에서 어느 림프노드가 센티넬 림프노드인지를 구분하기 어렵게 만들 수 있다는 단점이 있다.

[0011] 최근 연구에서, 고분자 유기용액에 근적외선 형광다이인 인도시아닌 그린(ICG) 수용액을 분산시킨 후, 상기 혼합 수용액이 분산된 고분자 유기용액을 유화제 수용액에 분산시켜, 근적외선 형광다이를 함유하는 고분자 입자에 대한 특허 출원이 있었으나(한국공개특허 제2009-0026642호), 이러한 고분자 입자는 >100 nm 입경을 가지는 나노/마이크로 입자로 제조되며 주로 혈관투여 및 경구투여에 사용될 수 있으나, 10~25 nm의 입경을 요구하는 센티넬 림프노드 감지에는 적합하지 않았다.

[0012] 또한, 생체적합성 음이온 고분자 물질인 알긴산 나트륨과 다중 양이온 중합체인 폴리-L-라이신 용액의 연쇄 이온 반응에 의해 인도시아닌 그린과 세포 봉입된 마이크로 캡슐을 제조한 특허출원이 있었으나(한국공개특허 제2009-0008838호), 이러한 고분자 입자는 세포 봉입을 위해 >10 μm 의 입경을 가지므로 센티넬 림프노드 감지에는 적합하지 않았다.

[0013] 또한, 양전하를 띤 폴리알릴아민염소산(Poly allylamine hydrochloride) 전해질 고분자와 이염산나트륨 음이온의 이온교차결합 반응에 의해 인도시아닌 그린을 봉합한 후 실리카 나노파티클로 코팅된 마이크로 캡슐을 제조한 특허출원이 있었으나(미국공개특허 제20100047356호에는), 이러한 고분자 마이크로 캡슐은 0.6~2 μm 의 입경을 가지고 있으며, 인도시아닌그린의 광역학 특성을 이용한 광치료에 사용될 뿐, 센티넬 림프노드 감지에 적합하지 않았다.

[0014] 이에, 본 발명자들은 혈액을 통해 주입했을 때, 센티넬 림프노드에서 보다 오랜시간 동안 머물면서, 다른 림프노드로 적게 이동하는 분자영상용 프로브를 개발하고자 예의 노력한 결과, γ -PGA와 인도시아닌 그린 복합체를 제조하고 이를 분자영상용 프로브로 사용할 경우, 센티넬 림프노드를 보다 쉽고, 정확하게 감지할 수 있는 것을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0015] 본 발명의 목적은 분자영상용 프로브가センチネル 림프노드에서 오랜 시간 동안 머물게 해주고, 다른 림프노드로 이동하는 경향을 줄여 줌으로써, 좀 더 쉽고 효과적으로センチネル 림프노드를 감지할 수 있도록 하는 폴리감마글루탐산과 광학영상다이의 복합체를 함유하는センチネル 림프노드 검진용 광학영상 프로브를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0016] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 폴리감마글루탐산과 광학영상다이의 복합체를 함유하는センチネル 림프노드 검진용 광학영상 프로브를 제공한다.

발명의 효과

- [0017] 본 발명에 따르면, 기존의 방사능 의약품을 사용하지 않고, 생체에 안전한 폴리감마글루탐산과 형광다이의 복합체를 사용하므로, 방사능 오염의 염려 없이,センチネル 림프노드의 위치를 실시간으로 정확하게 감지할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0018] 도 1은 인도시아닌그린(ICG)(좌) 및 γ -PGA/ICG 복합체(우)의 근적외선 형광 스펙트럼(우)을 나타낸 것이다. 0.01% ICG 와 γ -PGA/ICG 복합체 용액을 1.5 ml tube에 50 μ l씩 분주한 후에, 실온에서 3일 동안 방치했을 경우, 광안정성을 나타낸 것이다.

도 2는 본 발명에서 사용된 근적외선 영상 측정장치의 개략도이다.

도 3은 γ -PGA(분자량 50KDa)/ICG 복합체를 마우스 왼쪽 앞발바닥에 주사한 후 5~30분후에 근적외선 광학영상 장비로 얻는 *in vivo*センチネル 림프노드 영상을 나타낸 것이다.

도 4는 γ -PGA(분자량 7000KDa)/ICG 복합체를 마우스 왼쪽 앞발바닥에 주사한 후 5~30분후에 근적외선 광학영상 장비로 얻는 *in vivo*センチネル 림프노드 영상을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0019] 본 발명은 폴리감마글루탐산과 광학영상다이의 복합체를 함유하는センチネル 림프노드 검진용 광학영상 프로브에 관한 것이다.

- [0020] 형광다이로 사용되는 인도시아닌은 음전하를 띠는 양친매성(소수성 및 친수성) 물질로써, 수용액 내에서 인도시아닌의 음전하와 γ -PGA의 소수성 부분이 소수성 결합(비공유 결합)에 의해 복합체를 형성하게 된다.

- [0021] 본 발명에서 광학영상다이는 가시광선 및 근적외선 파장영역에서 형광특성을 나타내는 형광다이이며, 특히 빛에 대한 피부침투도가 최대가 되는 근적외선 영역에서 형광특성을 나타내는 근적외선 광학다이를 이용한 영상프로브는 S/N 가 높은 신호를 감지할 수 있다.

- [0022] 본 발명에 있어서, 상기 광학영상다이는 근적외선 또는 가시광선 영역의 형광다이인 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 근적외선 형광다이는 Alexa Fluor 647, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 780, cy5, cy5.5, cy7, 인도시아닌 그린(ICG), Cypate, ITCC, NIR820, NIR2, IRDye680, IRDye700, IRDye800, DiD, DiR, Cresy Violet, Nile Blue, Oxazine 750, Rhodamine800로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 가시광선 형광다이는 Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 532, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 647, cy2, cy3, cy3.5, Fluorescein (FITC), NBD, Nile Red, Rhodamine B, Tetramethylrhodamine (TRITC), Texas Red로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있다.

- [0023] 바람직하게는 상기, 광학영상다이는 근적외선 형광다이일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 인도시아닌 그린(ICG)일 수 있다.

- [0024] 본 발명에 있어서, 상기 광학영상 프로브는センチネル 림프노드 검진용인 것을 특징으로 할 수 있다.

- [0025] 본 발명에서 γ -PGA는 미생물에 의해서 생산되는 양식에 의하여 구분되는데, 구성 아미노산인 글루탐산의 두 이성질체 (D-glutamic acid, L-glutamic acid)의 구성비에 따라 100% L-글루탐산의 폴리감마글루탐산을 생산하는 *Natrialba aegyptiaca*, *Bacillus halodurans* 와 100% D-글루타민산으로 구성된 폴리감마글루탐산을 생산하는 *Bacillus anthracis* 그리고 D-글루탐산, L-글루탐산이 모두 혼합되어 있는 폴리감마글루탐산을 생산하는 *Bacillus licheniformis*, *Bacillus magaterium*, *Bacillus subtilis* 등이 보고되어 있다. 본 발명에서 사용되는 폴리감마글루탐산은 상기 D/L 폴리감마글루탐산의 종류에 한정되지 않고 사용가능하며, 본 발명에서 사용된 폴리감마글루탐산은 10~15000kDa인 것이 바람직하다.
- [0026] 본 발명에서 근적외선 형광다이오드는 시아닌 계열인 cy3.5, cy5, cy5.5, cy7, ICG를 포함한다. 본 발명에 사용되는 다른 종류의 근적외선 형광다이오드는 Alexa Fluor 647, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 780, Cypate, ITCC, NIR820, NIR2, IRDye680, IRDye700, IRDye800, DiD, DiR, Cresy Violet, Nile Blue 와 Oxaines 계열의 Cresy Violet, Nile Blue, Oxazine 750 및 Rhodamines 계열의 Rhodamine800, Texas Red 로 구성된 군에서 선택되는 유기물인 것을 특징으로 하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0027] 앞서서 언급했듯이 인도시아닌 그린(ICG)은 FDA로부터 인체 적용가능성이 허용된 몇 안되는 형광염료중의 하나이면서, 근적외선 영역에서 형광을 내기 때문에, 다양한 분야에 활용이 되고 있으나, 물질 자체의 광안정성이 낮아, 더 많은 분야로의 활용에 제약조건이 되고 있다.
- [0028] 본 발명에서는 이러한 ICG를 센티넬 림프노드 감지에 사용함에 있어서, γ -PGA/ICG 복합체를 구성함으로써, ICG의 낮은 광안정성을 획기적으로 향상시키는 방법을 제공한다 (도 1). 도 1에서, 일반적인 ICG는 3일 후에 형광강도가 급격하게 감소하는 것을 알 수 있으나, γ -PGA/ICG 복합체는 그 형광강도가 거의 일정하게 유지되는 것을 알 수 있다.
- [0029] 또한, 본 발명에서는 이러한 ICG를 센티넬 림프노드 감지에 사용함에 있어서, ICG 분자의 크기가 너무 작아서 생체 내에 주입되었을 때, ICG가 센티넬 림프노드에 오래 머물러 있지 않고, 주변의 다른 림프노드로 이동해 버리는 문제점을 해결할 수 있는 방법을 제공하는 것을 특징으로 한다. 이러한 점은 실제 수술과정에서 암 조직 주위에서 어느 림프노드가 센티넬 림프노드인지를 구분하기 어렵게 만들 수 있다는 단점이 있다. 본 발명에서는 이러한 효과를 검증하기 위해서 분자량이 큰 생체친화성 고분자 소재와 복합체를 구성함으로써, 이러한 문제를 해결하고자 하였다.
- [0030] 본 발명의 일 실시예에서는 분자량이 각각 50KDa 및 7000KDa 인 γ -PGA와 ICG의 복합체를 제조하여, 센티넬 림프노드 감지에 응용하였다 (도 3 및 도 4).
- [0031] 도 3에서도 알 수 있듯이, 일반적인 ICG를 피부에 주입하였을 때, 시간이 경과함에 따라, 센티넬 림프노드 방향으로 ICG가 이동하는 경향을 파악할 수 있으나, 30분이 경과한 후에도 ICG가 센티넬 림프노드에 머물러 있지 않고, 다른 림프노드로 이동함으로써, 센티넬 림프노드에서의 형광강도가 매우 약하다는 것을 알 수 있다. 이에 비해, 분자량이 50KDa 인 γ -PGA/ICG 복합체를 0.01% 농도로 피부에 주입하였을 경우, 30분이 경과한 후에 센티넬 림프노드에서 방출되는 형광강도가 매우 강하다는 것을 확인할 수 있다.
- [0032] 또한, γ -PGA/ICG 복합체를 0.1% 농도로 증가 시켰을 경우에는, 5분이 지난 후부터 센티넬 림프노드에서 강한 형광신호가 감지되기 시작하면서 20, 30 분후에는 매우 강한 형광강도를 감지할 수 있다. 반면, γ -PGA/ICG 복합체를 1% 농도로 주입하였을 경우에는 20 분이 경과할 때까지 신호가 약하다가 30 분이 경과한 후에, 역시, 센티넬 림프노드에서 강한 형광 신호를 감지할 수 있었다.
- [0033] 도 4에서는 분자량이 7000KDa 인 γ -PGA/ICG 복합체를 0.01%, 0.1%, 1% 농도로 피부에 주입한 후에 센티넬 림프노드에서 감지되는 형광 강도를 알아보았다.
- [0034] 도 4에서 알 수 있듯이, 분자량이 7000KDa 인 γ -PGA/ICG 복합체를 0.01% 만 사용하여도 20 분이 지난 후에 센티넬 림프노드에서 강한 형광신호가 감지되기 시작하였으며, 30분이 지난 후에는 신호가 더욱 강해짐을 알 수 있다. 이에 비해, 분자량이 7000KDa 인 γ -PGA/ICG 복합체를 0.1% 와 1% 농도로 사용하였을 경우에는 센티넬 림프노드에서 감지되는 신호가 약해짐을 확인할 수 있다.
- [0035] 이러한 실험결과는 γ -PGA/ICG 복합체를 이용한 센티넬 림프노드 감지방법에서, γ -PGA의 분자량에 따라서 적절한 농도를 선택하는 것이 매우 중요하다는 것을 시사하고 있다.
- [0036] 이하 본 발명을 다음의 실시예와 시험예에 의하여 더욱 자세히 설명하고자한다. 그러나 이들은 본 발명의 이해

를 쉽게 하기 위해 제공되는 것으로써 본 발명의 기술적 범위가 이들에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0037] 실시예 1: PGA/ICG 복합체의 제조

[0038] 형광다이오드 사용되는 ICG는 음전하를 띠는 양친매성 (소수성 및 친수성) 물질로써, ICG의 수용액내에서 음전하를 띠는 γ -PGA의 소수성 부분과 소수성 결합 (비공유 결합)에 의해 복합체가 형성된다.

[0039] 인도시아닌 그린(ICG)과 γ -PGA의 복합체를 다음과 같이 제작하였다.

[0040] ICG((주)동인당 제약) 0.01 mg과 γ -PGA((주) 바이오리더스) 0.1, 1, 10 mg을 3차 증류수 1 ml에 순차적으로 용해시켜 복합체를 제조하였다

[0041] 제작된 ICG/ γ -PGA 복합체 용액을 1.5 ml 튜브에 50 μ l씩 분주한 후, 형광 분광계 (Fluorescence Spectrophotometer; FluoroMate FS-2)를 이용하여 근적외선 형광 스펙트럼을 측정하였다 (도 1).

[0042] 도 1에 나타난 바와 같이, ICG는 시간이 지남에 따라 급격하게 감소하는 것을 알 수 있으나, ICG/ γ -PGA 복합체 3일이 지나도 형광강도가 거의 일정하게 유지되는 것을 알 수 있다.

[0043] 실시예 2: ICG/ γ -PGA 복합체의 *in vivo* 영상화

[0044] 동물실험에 사용할 마우스는 특정 병원균이 없는 6주령의 암컷 BALB/c 누드 마우스(SLC Inc., Japan)를 사용하였으며, 모든 동물실험은 충남대학교 공동동물실험센터에서 승인을 받은 후 수행하였다.

[0045] 데이터 획득 및 분석을 위해 자체 제작된 근적외선 광학영상 측정 장치 (home made NIR optical imaging system)(도 2)를 이용하여 영상을 얻었다 (도 3). 여기서, 상기 근적외선 영상 측정 장치는 500mW 화이버 형태의 레이저로 구성된 광원(light source), 방출 필터(emission filter), 마이크로 줌이 장착된 렌즈 시스템, 근적외선 검출기(NIR CCD detector)로 구성된다 (도 2). 상기 근적외선 영상 측정 장치에서 형광의 세기는 슈도 컬러 (pseudo color)로 나타나며, 붉은 형광을 나타낼수록 형광강도가 세다는 것을 나타낸다.

[0046] 영상화에 앞서, 체중 g 당 0.01 ml의 2.5% 아버틴(averitin) (2,2,2-tribromoethanol-tert-amyl alcohol, Sigma) 용액을 마우스의 복강에 주입하여 마우스를 마취시켰다. 50 μ l ICG 용액(0.01%), ICG/ γ -PGA(50kDa) 복합체용액(0.01%, 0.1% 및 1%) 및 ICG/ γ -PGA(7000kDa)복합체용액(0.01%, 0.1% 및 1%)을 각각의 누드 마우스의 왼쪽 앞발바닥에 주입(footpad, subcutaneous injection)하고, 5분, 20분 및 30분 후에 센티넬 림프노드의 형광을 측정하였다. 모든 근적외선 형광 영상은 760 nm 레이저와 835/55 nm (810~860 nm 여기과장 측정) 필터 세트를 이용하여 측정하였다.

[0047] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 일반적인 ICG를 피부에 주입하였을 때, 시간이 경과함에 따라, 센티넬 림프노드 방향으로 ICG 가 이동하는 경향을 파악할 수 있으며, 30분이 경과한 후에도 ICG가 센티넬 림프노드에 머물러 있지 않고, 다른 림프노드로 이동함으로써, 센티넬 림프노드에서의 형광강도가 매우 약하다는 것을 알 수 있다. 이에 비해, 분자량이 50KDa 인 γ -PGA를 사용한 ICG/ γ -PGA 복합체의 경우, 30분이 경과한 후에 센티넬 림프노드에서 방출되는 형광강도가 ICG 단독에 비하여 매우 강하다는 것을 확인할 수 있었다.

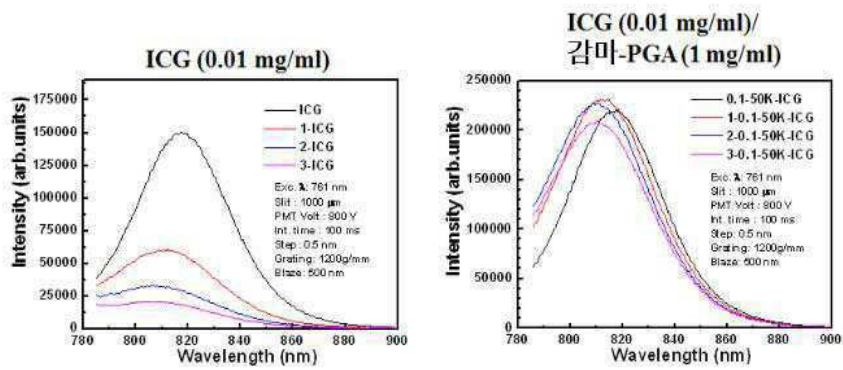
[0048] 또한, γ -PGA/ICG 복합체를 0.1% 농도로 증가시켰을 경우에는, 5분이 지난 후부터 센티넬 림프노드에서 강한 형광신호가 감지되기 시작하면서 20분후 및 30 분후에는 매우 강한 형광강도를 감지할 수 있다. 반면, γ -PGA/ICG 복합체를 1% 농도로 주입하였을 경우에는 20분이 경과할 때까지 신호가 약하다가 30분이 경과한 후에, 역시, 센티넬 림프노드에서 강한 형광 신호를 감지할 수 있었다.

[0049] 또한, 분자량이 7000KDa 인 γ -PGA/ICG 복합체를 0.01%, 0.1%, 1% 농도로 피부에 주입한 후에 센티넬 림프노드에서 감지되는 형광 강도는 도 4에 나타난 바와 같이, γ -PGA/ICG 복합체를 0.01% 만 사용하여도 20 분이 지난 후에 센티넬 림프노드에서 강한 형광신호가 감지되기 시작하였으며, 30분이 지난 후에는 신호가 더욱 강해짐을 알 수 있다. 이에 비해, 분자량이 7000KDa 인 γ -PGA/ICG 복합체를 0.1% 와 1% 농도로 사용하였을 경우에는 센티넬 림프노드에서 감지되는 신호가 약해짐을 확인할 수 있다.

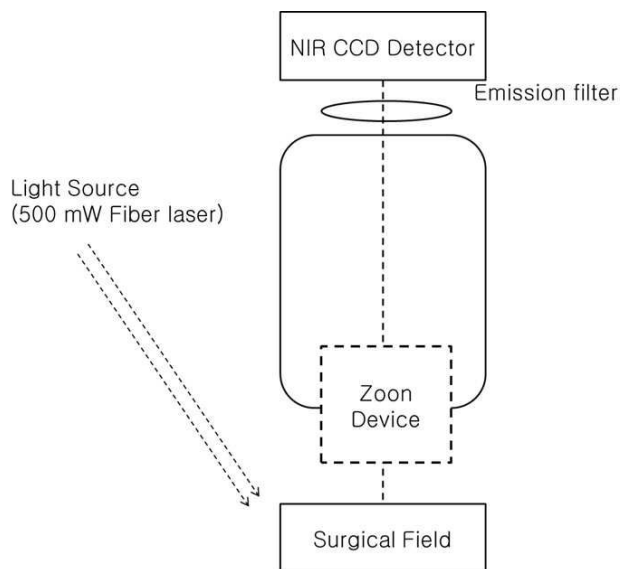
[0050] 이러한 실험결과는 γ -PGA/ICG 복합체를 이용한 센티넬 림프노드 감지방법에서, γ -PGA의 분자량에 따라서 적절한 농도를 선택하는 것이 매우 중요하다는 것을 시사하고 있다.

도면

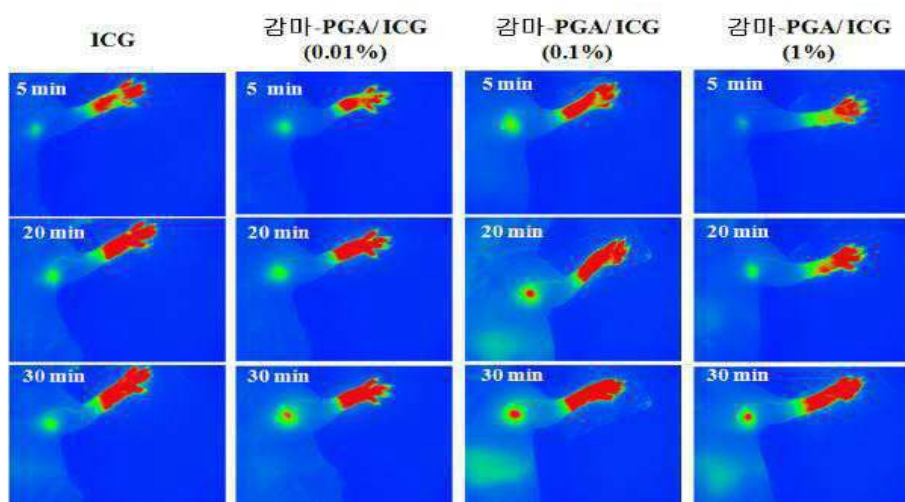
도면1



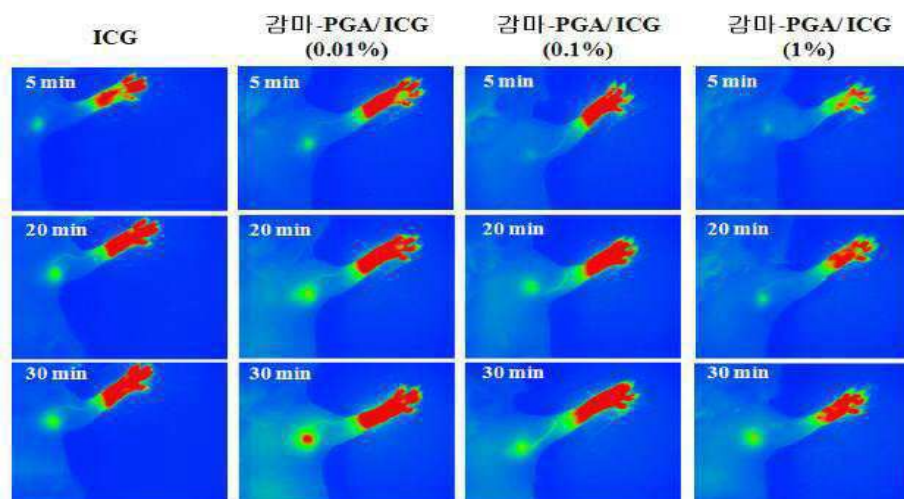
도면2



도면3



도면4



专利名称(译)	用于感测含有聚(γ谷氨酸)复合物的前哨淋巴结和光学成像模具的光学图像		
公开(公告)号	KR101297815B1	公开(公告)日	2013-09-03
申请号	KR1020100114925	申请日	2010-11-18
[标]申请(专利权)人(译)	忠南大学校产学协力团		
申请(专利权)人(译)	忠南大学产学合作基金会 주식회사바이오리더스 国立大学学术合作		
当前申请(专利权)人(译)	忠南大学产学合作基金会 주식회사바이오리더스 国立大学学术合作		
[标]发明人	SUNG MOON HEE 성문희 LIM YONG TAIK 임용택 NOH YOUNG WOOCK 노영욱 LEE II HAN 이일한		
发明人	성문희 임용택 노영욱 이일한		
IPC分类号	A61K49/12 A61K49/10 A61K47/04 A61B5/00		
CPC分类号	A61K49/0054 A61K49/0034 A61K49/0056 G01N21/6428 G01N21/6456		
代理人(译)	Yicheoyoung		
其他公开文献	KR1020120053682A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

目的：提供含有聚谷氨酸和光学成像染色结合物的光学成像探头，以准确无误地检测前哨淋巴结的位置，无辐射污染。组织结构：用于感知前哨淋巴结的光学成像探头含有多聚谷氨酸的结合物酸和光学成像染料。光学成像染料是近红外线或可见光内的荧光染料。近红外线内的荧光染料包括Alexa Fluor 647，Alexa Fluor 660，Alexa Fluor 680，Alexa Fluor 700，Alexa Fluor 780，cy5，cy5.5，cy7，吲哚菁绿（ICG），Cypate，ITCC，NIR820，NIR2，IRDye680，IRDye700，IRDye800，DiD，DiR，Cresy Violet，Nile Blue，Oxazine 750和Rhodamine800。可见光内的荧光染料包括Alexa Fluor 350，Alexa Fluor 488，Alexa Fluor 532，Alexa Fluor 568，Alexa Fluor 633，Alexa Fluor 647，cy2，cy3，cy3.5，荧光素（FITC），NBD，尼罗红，罗丹明B，四甲基罗丹明（TRITC）和德克萨斯红。COPYRIGHT KIPO 2012

