



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0123760
(43) 공개일자 2024년08월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 1/42 (2017.01) C12M 3/00 (2006.01)
C12N 13/00 (2017.01) C12N 5/09 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C12M 35/06 (2013.01)
C12M 21/08 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-0016899
(22) 출원일자 2024년02월02일
심사청구일자 2024년02월02일
(30) 우선권주장
1020230015755 2023년02월06일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
김영근
서울특별시 강남구 압구정로61길 37, 72동 1109호 (압구정동, 한양아파트)
김유진
경기도 성남시 분당구 미금로 23(구미동, 무지개마을신한.건영아파트) 310동 1004호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인다나

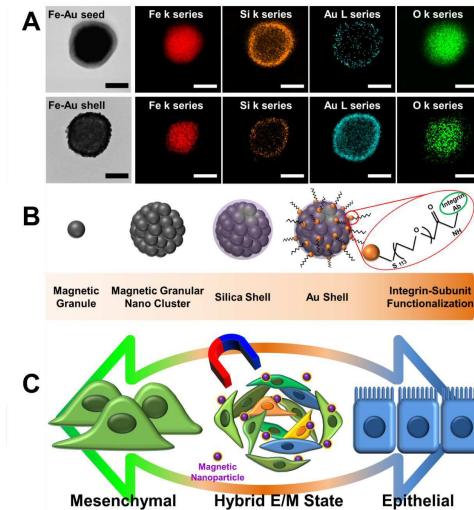
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 암세포의 하이브리드 E/M 상태 유도용 배양 시스템

(57) 요약

본 발명은 세포 배양 시스템 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 본 발명은 자성 나노입자에 작용하는 자기장의 결과인 물리적 자극을 통해 세포 극성에 영향을 주어 암세포의 상피-중간엽 전이와 중간엽-상피 전이를 동시에 제어할 수 있으며, 세포 극성을 변화하여 세포의 특성을 변화시킬 수 있다. 본 발명은 각 세포 상태에 따른 진단, 항암 표적 약물 개발 등 다양한 분야에 활용될 수 있다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

C12N 13/00 (2013.01)

C12N 5/0693 (2013.01)

G01N 2500/00 (2013.01)

(72) 발명자

이대범

서울특별시 동대문구 약령사로 5-3(제기동) 202호

정은진

서울특별시 광진구 자양로15길 93(자양동) 401호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711160724
과제번호	2021R1A2C1014632
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	(이공)(유형1-1)중견연구(연평균연구비 1.5억원 이내)
연구과제명	암세포 전이제어를 위한 EMT 유도용 프랙탈 나노소재 개발
과제수행기관명	고려대학교 산학협력단
연구기간	2021.03.01 ~ 2024.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711169952
과제번호	2019R1A2C3006587
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	(이공)(유형2)중견연구(연평균연구비 2억원~4억원이내)
연구과제명	금속 및 금속산화물 기반 항암 면역치료용 복합스캐폴드 개발
과제수행기관명	고려대학교 산학협력단
연구기간	2019.03.01 ~ 2024.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

세포에 물리적인 자극을 주는 자기장; 및

자기장으로부터 받은 물리적인 자극을 세포에 전달하는 자성 나노입자 (magnetic nanoparticles, MNP);를 포함하는 세포 배양 시스템으로서,

상기 세포 배양 시스템은 상피-중간엽 전이 (epithelial-mesenchymal transition; EMT) 및 중간엽-상피 전이 (mesenchymal-epithelial transition; MET)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 전이를 유도하는 것인, 세포 배양 시스템.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 자기장은 200 Oe (에르스텝) 내지 600 Oe인 것인, 세포 배양 시스템.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 자성 나노입자는 Fe_3O_4 , FeO , Fe_2O_3 , CoFe_2O_4 , NiFe_2O_4 , MnFe_2O_4 , TiO_2 , ZrO_2 , CeO_2 , Al_2O_3 및 MgO 로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 금속산화물 나노입자인 것인, 세포 배양 시스템.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 자성 나노입자의 평균 입경은 10 내지 500 nm인 것인, 세포 배양 시스템.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 EMT 유도는 비멘틴 (vimentin), α -SMA, FAK, N-카데린(N-cadherin), DDR2, 테스민 (desmin), 파이브로넥틴 (fibronectin), 라미닌-5 (laminin-5), MMP-2, MMP-3, MMP-9, S100A4, 신데칸-1/CD138 (syndecan-1/CD138), 비트로넥틴 (vitronectin) 및 스네일 (snail)로 이루어진 군에서 선택되는 중간엽 마커의 발현 증가에 의해 나타나는 것인, 세포 배양 시스템.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 MET 유도는 팍실린 (paxillin), E-카데린 (E-cadherin), 액틴, ALCAM, β -카데닌 (β -catenin), 콜라겐 I, 사이토케라틴 8 (cytokeratin 8), 사이토케라틴 14, 사이토케라틴 19, EpCAM, 히알루로난 (hyaluronan), JAM-A, JAM-B/VE-JAM, JAM-C, JAM-4/IGSF5, 라미닌 I (laminin I), 넥틴-1 (nectin-1), 넥틴-2/CD112, 넥틴-3 및 넥틴-4로 이루어진 군에서 선택되는 상피 마커의 발현 증가에 의해 나타나는 것인, 세포 배양 시스템.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 세포는 암세포, 피부, 입, 코, 항문관, 호흡기계통, 소화기계통, 심혈관계통 및 림프계통으로 이루어진 군에서 선택되는 조직세포 또는 이의 전구체 세포인 것인, 세포 배양 시스템.

청구항 8

자성 나노입자를 세포와 결합시키는 결합 단계; 및

자성 나노입자와 결합한 세포에 자기장을 가하는 극성유도 단계를 포함하는 세포 배양 방법으로서,

상기 세포 배양 방법은 상피-중간엽 전이 (epithelial-mesenchymal transition; EMT) 및 중간엽-상피 전이 (mesenchymal-epithelial transition; MET)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 전이를 유도하는 것인, 세포 배양 방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 결합 단계는 나노입자를 세포의 인테그린 (integrin)에 결합하는 단계를 포함하는 것인, 세포 배양 방법.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 나노입자를 세포의 인테그린 (integrin)에 결합하는 단계는 세포의 인테그린에 b1 서브유닛 항체 (b1 subunit antibody Ab), 콜라겐-바인딩 인테그린 항체 (Collagen-binding integrin Ab), RGD 인식 인테그린 항체 (RGD-recognizing integrins Ab), 라미닌 결합 인테그린 항체 (laminin-binding integrins Ab) 및 백혈구 인테그린 항체 (leukocyte integrins Ab)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 항체를 결합하는 단계를 포함하는 것인, 세포 배양 방법.

청구항 11

제8항에 있어서,

상기 자성 나노입자는 Fe_3O_4 , FeO , Fe_2O_3 , CoFe_2O_4 , NiFe_2O_4 , MnFe_2O_4 , TiO_2 , ZrO_2 , CeO_2 , Al_2O_3 및 MgO 로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 금속산화물 나노입자인 것인, 세포 배양 방법.

청구항 12

제8항에 있어서,

상기 자성 나노입자의 평균 입경은 10 내지 500 nm인 것인, 세포 배양 방법.

청구항 13

제8항에 있어서,

상기 자기장은 200 Oe (에르스텝) 내지 600 Oe인 것인, 세포 배양 방법.

청구항 14

제8항에 있어서,

상기 EMT 유도는 비멘틴 (vimentin), α -SMA, FAK, N-카데린(N-cadherin), DDR2, 데스민 (desmin), 파이브로넥틴 (fibronectin), 라미닌-5 (laminin-5), MMP-2, MMP-3, MMP-9, S100A4, 신데칸-1/CD138 (syndecan-1/CD138), 비트로넥틴 (vitronectin) 및 스네일 (snail)로 이루어진 군에서 선택되는 중간엽 마커의 발현 증가에 의해 나타나는 것인, 세포 배양 방법.

청구항 15

제8항에 있어서,

상기 MET 유도는 팍실린 (paxillin), E-카데린 (E-cadherin), 액틴, ALCAM, β -카데린 (β -catenin), 콜라겐 I, 사이토케라틴 8 (cytokeratin 8), 사이토케라틴 14, 사이토케라틴 19, EpCAM, 히알루로난 (hyaluronan), JAM-A, JAM-B/VE-JAM, JAM-C, JAM-4/IGSF5, 라미닌 I (laminin I), 넥틴-1 (nectin-1), 넥틴-2/CD112, 넥틴-3 및 넥틴-4로 이루어진 군에서 선택되는 상피 마커의 발현 증가에 의해 나타나는 것인, 세포 배양 방법.

청구항 16

자성 나노입자를 세포와 결합시키는 결합 단계;

자성 나노입자와 결합한 세포에 자기장을 가하는 극성유도 단계;

약물 후보물질을 처리 또는 비치리하여, 상기 청구항 1항의 세포 배양 시스템에 세포를 추가로 배양하는 단계;

약물 후보물질 처리 세포 및 비치리 세포의 국소부착 관련 단백질 발현수준을 확인하여 비교하는 비교 단계; 및
약물 후보물질 비치리 세포에 비해 약물 후보물질을 처리하여 배양한 세포에서 국소부착 관련 단백질 발현 수준이 증가 또는 감소한 경우 약물 후보물질을 해당 세포에 대한 약효를 갖는 것으로 판단하는 단계를 포함하는 세포 전이 유도 판별 약물 스크리닝 방법;으로,

상기 세포는 상피-중간엽 전이 (epithelial-mesenchymal transition; EMT) 및 중간엽-상피 전이 (mesenchymal-epithelial transition; MET)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 전이가 유도된 것인, 약물 스크리닝 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 암세포의 상피-중간엽 전이와 중간엽-상피 전이를 동시에 제어 가능한 세포 배양 시스템 및 이의 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 자성 나노입자에 작용하는 자기장의 결과인 물리적 자극을 통해 세포 극성에 영향을 주는 시스템을 구성하고, 세포 극성의 변화가 세포의 특성을 변화시킬 수 있는 세포 배양 시스템 및 이의 용도에 관한 것이다. 해당 세포 배양 시스템은 각 세포 상태에 따른 진단, 항암 표적 약물 개발 등 다양한 분야에 사용될 수 있다.

배경 기술

[0002] 암 전이는 원발성 종양에서 암세포를 증식시키고 원거리 조직에서 원발성 종양 콜로니와 동일한 유형의 암을 새로운 전이성 종양으로 전파하는 침습-전이 단계를 포함하는 복잡한 다단계 과정이다. 최근 원발성 종양의 형성에 대한 구체적인 병인 기전을 해명한 방대한 결과와는 달리, 전이성 종양은 다양한 유형의 전이에 대한 이해가 여전히 불충분한 상태이다.

[0003] 암세포는 종양형성 이후 향상된 이동 능력을 획득하기 위해 상피세포 (Epithelial cell)에서 중간엽 세포

(Mesenchymal cell)로 전환 (Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT)을 시도한다. 상피세포는 EMT 프로그램에 의해 전이성 및 침습성을 가진 세포로 변형되고, 이에 의해 암세포는 이동 및 전이에 보다 편리한 중간엽 특성을 새롭게 획득하게 된다. EMT가 진행된 암세포는 혈관을 구성하는 내피세포를 관통하여 순환계에 진입하여 순환하는 종양세포가 된다. EMT 과정을 거쳐 CTC가 되는 과정에서 암세포는 상피세포와 중간엽 세포의 특성, 즉, 상피/중간엽 표현형이 모두 혼합된 중간 상태가 된다. EMT가 진행된 CTC의 중간엽 표현형은 세포 성장보다 세포 운동성을 촉진하여 암세포가 혈관에서 탈출할 수 있도록 한다. 유출된 CTC는 EMT에서 중간엽-상피 전이 (MET)로 전환될 때 분열을 시작하고 이후에 전이성 암을 형성한다.

[0004] 이런 점에서 EMT와 MET의 중간 상태인 암세포는 훨씬 더 효율적으로 침투하고 성장하여 더 나은 암 전이를 유도하는 것으로 알려져 있다.

[0005] 무기나노입자 (Inorganic nanoparticles, NPs)는 안정성과 생체 적합성을 널리 인정받아 생물의학 응용분야에서 널리 사용되고 있다. 무기나노입자는 외부 자기장을 통해 제어된 물리적 자극을 가하여 특정 세포 반응을 유도함으로써 세포 분극과 행동에 변화를 일으키도록 맞춤화할 수 있다.

[0006] 따라서, 무기나노입자를 활용하여 세포 극성을 조작하고 암세포의 상피 형질을 유도하여 전이와 관련이 있는 하이드로 상피/간엽(E/M) 상태를 표적으로 삼는 기술 개발에 대한 요구가 증가하는 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 10-2484477

(특허문헌 0002) 10-2425509

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) Yu Jin Kim et al., Adv Funct Mater 31(9) 2008758 (2021)

(비특허문헌 0002) YJ Kim et al, Adv Funct Matter SI 2008758 (2020 1203)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명자들은 전이와 관련이 있는 상피-중간엽 전이와 중간엽-상피 전이를 동시에 제어하고자 예의 연구 노력하였다.

[0010] 그 결과, 자성나노입자를 활용하여 세포 극성을 조작하고 암세포의 상피 형질을 유도하여 상피-중간엽 전이와 중간엽-상피 전이를 동시에 제어할 수 있으며, 세포 극성을 변화하여 세포의 특성을 변화시킬 수 있는 세포 배양 시스템 및 이의 활용한 세포 배양 방법을 개발하여 본 발명을 완성하였다.

[0011] 이에, 본 발명의 목적은 세포에 물리적인 자극을 주는 자기장; 및 자기장으로부터 받은 물리적인 자극을 세포에 전달하는 자성 나노입자를 포함하는 세포 배양 시스템을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 다른 목적은 자성 나노입자를 세포와 결합시키는 결합 단계; 및 자성 나노입자와 결합한 세포에 자기장을 가하는 극성유도 단계를 포함하는 세포 배양 방법을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 약물 후보물질을 처리 및 비처리한 세포의 국소부착 관련 단백질 발현수준을 확인하여 세포 전이 유도를 판별하는 약물 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 최근 암 연구의 초점은 암 발생 과정, 종양 특성 및 진행 단계를 정확하게 이해하는 것과 암을 치료할 수 있는 밝히는 것으로 변화하고 있다. 종양 미세 환경의 변화에 대한 연구, 암 조기 진단을 위한 새로운 바이오마커 발굴, 면역 요법 등이 있다. 상피세포의 중간엽 세포로의 전이를 유도하는 배양체 또는 배양 방법은 연구되고 있

으나, 상피세포/중간엽 세포가 양 방향에서 전이되게 할 수 있는 기술에 관하여는 연구가 미흡한 실정이다.

- [0015] 이와 같은 문제를 해결하고자 본 발명자들은 상피세포의 중간엽 세포로의 전이, 중간엽 세포의 상피세포로의 전이가 모두 가능한 상태를 만들기 위해 예의 연구 노력하였다.
- [0016] 그 결과, 본 발명자들은 하기 실시예를 통해 자기장으로 의한 강제적인 세포 극성 교란이 암세포에서 상피세포의 중간엽 세포로의 전이 상태를 유도하고, 지속적인 자극에 의해 상피세포와 중간엽 세포 모두 상피세포의 특성을 향상시킬 수 있음을 확인할 수 있었다.
- [0017] 실시예 1에서는 인간 유방 유래의 상피세포 세포주 MCF10A와 간엽유사세포인 유방암 세포주 MDA-MB-231에 자성 나노입자를 부착하고 자기장을 가하여 세포의 극성을 섭동 시켰다. 그 결과, 자기장이 자성 나노입자에 가하여 세포의 정점-기저 극성 (apical-basal polarity)를 유도하고, 세포의 극성 교란을 일으킨다는 것을 확인하였다.
- [0018] 실시예 2에서는 외부 자기장에 의해 유도된 세포의 극성 교란으로 인한 반응을 세포 내 발현되는 바이오마커의 발현도와 세포의 형태를 포함한 물리적 특성으로 평가하였다. 자기장에 의한 외력이 세포 내 극성 교란을 유도하고, 상피세포의 골격변화가 중간엽 표현형이 공존하는 하이브리드 상태로 나타났으며, 지속되는 극성으로 인하여 상피세포의 정점-기저 극성이 사라지며 상피세포로의 전이가 유도되었음을 확인할 수 있었다.
- [0019] 상피조직의 온전함과 역할은 세포의 극성에 의존한다. 조직 특성의 붕괴로 인한 상피 정체성의 상실은 조직 장애 및 암 침습성과 같은 병리학적인 상태를 유발하며, 세포 극성의 교란은 진행성 침습성 암의 주요 특징으로 간주된다. 부분 EMT에 의해 유도된 중간형 표현형을 가진 세포는 중간엽과 상피 특성을 동시에 가질 수 있으며, 세포 간 부착이 유지되어 집단적인 세포 이동을 보이는 경우가 많다. 상피세포의 중간엽 세포로의 전이 (EMT), 중간엽 세포의 상피세포로의 전이 (MET)는 세포 이동에 도움이 되는 형태에 적응하기 위한 세포의 복잡한 재프로그래밍으로서, 상피 가소성의 단계적 순환의 특징적인 과정이다.
- [0020] EMT 과정에서 주변 세포와 강한 접합을 유지하는 상피세포의 점점-기저 극성은 이동 능력을 향상시키기 위해 최적화된 전-후 극성으로 전환된다. 상피세포의 형태와 기능에 필수적인 정점-기저 특성은 EMT를 억제하여 전이성 확산을 억제한다. 접착 분자에 의한 세포 간 접합은 세포 간 확산을 막는 장벽으로 작용한다. 그런 점에서, 세포 유형별 물리적 특성은 세포의 모양뿐만 아니라 세포막을 변형시킬 정도로 돌출된 세포 골격으로 인한 세포막의 거칠기, 단일 세포 수준의 점탄성 등을 의미할 수 있다. EMT 과정에서 암세포는 접착 특성을 변화시킬 뿐만 아니라 발달 과정을 통해 액틴 세포 골격의 극단적인 재구성을 동반한다. EMT의 눈에 띄는 특징은 액틴 세포의 골격의 재구성이다. 또한, 세포외기질 (extracellular membrane, ECM)의 강성은 기계 전달을 통한 세포 내 신호 전달 경로를 통해 세포 과정에 영향을 미치고 세포의 표현형을 변화시켜 종양에서 빠른 EMT와 전이를 유도한다. 또한 액틴 스트레스 섬유는 부드러운 기질보다 단단한 기질에서 자란 세포에서 더 두드러졌다.
- [0021] 실시예 2에서는 자기장에 의한 외부자극으로 인하여 세포 내 신호의 변화가 유도되며, 변화된 세포 내 신호전달이 세포 내 생리화적인 변화로 이어지며, EMT 전이 과정에서의 세포 형태인 길쭉한 모양과 액틴 필라멘트가 두껍고 평행한 수축성 다발로 재구성되는 것을 확인하였다.
- [0022] 실시예 3은 상피세포/중간엽 혼합 표현형의 형태학적인 특징 및 EMT 및 MET에 발현이 되는 단백질의 발현 수준을 평가하였다. 세포의 접착 접합부와 관련이 있는 파실린 및 E-카데헤린은 발현이 증가하였으나, 세포 이동과 관련된 중간엽 세포의 바이오 마커인 비멘틴은 하향 조절된 것을 확인할 수 있었다. 이와 같은 발현 패턴은 세포 막에 결합하는 나노입자가 외부 자기장과 반응하고, 세포가 이 반응을 자극으로 인식하여 세포 극성 교란을 일으켜 세포 내 신호 경로에 영향을 준 것을 확인하였다.
- [0023] 실시예 4는 두 가지 세포주인 MCF10A와 MDA-MB-231에 대해 상피 세포와 혼합되어 있는 중간엽 세포의 특징을 분석하기 위해 상처 치유 분석을 평가하였다. 두 세포주 모두 외부 인테그린 매개 자성 나노입자를 포함하고 외부 자기장을 처리하였을 때 상처가 빠르게 닫히는 것을 확인하였다. 이를 통해, 세포 극성의 교란이 상피와 중간엽 특성이 공존하는 상태를 초래함을 확인하였다.
- [0024] 실시예 5는 상피와 중간엽 특성을 모두 가진 하이브리드 E/M 상태에서 지속적인 자극에 노출된 세포는 상실된 정점-기저 극성을 확보하여 상피 특성을 회복함으로써 EMT 이전의 정상 세포와 유사한 물리적 특성을 가질 수 있는지 세포 강성을 영탄성계수E로 평가하였다. MCF10A 세포에 자기장에 의한 지속적인 외부 자극이 세포 극성 교란을 일으킨다는 것을 의미하며, 상피세포 MCF10A는 중간엽 유사 세포와 유사한 물리적 특성으로 변화함을 확인할 수 있었다.

- [0025] 이하, 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.
- [0026] 본 발명의 일 양태는 상피-중간엽 전이 (epithelial-mesenchymal transition; EMT) 및 중간엽-상피 전이 (mesenchymal-epithelial transition; MET)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 전이를 유도하는 세포 배양 시스템이다.
- [0027] 본 발명에 있어서 세포 배양 시스템은 세포에 물리적인 자극을 주는 자기장; 및 자기장으로부터 받은 물리적인 자극을 세포에 전달하는 자성 나노입자 (magnetic nanoparticles, MNP);를 포함한다.
- [0028] 본 발명에 있어서 자기장은 200 Oe 내지 600 Oe (에르스텟), 200 Oe 내지 550 Oe, 200 Oe 내지 500 Oe, 200 Oe 내지 450 Oe, 200 Oe 내지 400 Oe, 250 Oe 내지 600 Oe, 250 Oe 내지 550 Oe, 250 Oe 내지 500 Oe, 250 Oe 내지 450 Oe, 250 Oe 내지 400 Oe, 250 Oe 내지 350 Oe, 250 Oe 내지 300 Oe, 300 Oe 내지 600 Oe, 300 Oe 내지 550 Oe, 300 Oe 내지 500 Oe, 300 Oe 내지 450 Oe, 300 Oe 내지 400 Oe, 300 Oe 내지 350 Oe, 350 Oe 내지 600 Oe, 350 Oe 내지 550 Oe, 350 내지 500 Oe, 350 내지 450 Oe, 350 내지 400 Oe, 예를 들어, 400 Oe인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0029] 본 발명에 있어서 자성 나노입자는 Fe_3O_4 , FeO , Fe_2O_3 , CoFe_2O_4 , NiFe_2O_4 , MnFe_2O_4 , TiO_2 , ZrO_2 , CeO_2 , Al_2O_3 및 MgO 로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 금속산화물 나노입자인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0030] 본 발명에 있어서 자성 나노입자의 평균 입경은 10 내지 500 nm, 10 내지 450 nm, 10 내지 400 nm, 10 내지 350 nm, 10 내지 300 nm, 10 내지 250 nm, 10 내지 200 nm, 50 내지 500 nm, 50 내지 450 nm, 50 내지 400 nm, 50 내지 350 nm, 50 내지 300 nm, 50 내지 250 nm, 100 내지 500 nm, 100 내지 450 nm, 100 내지 400 nm, 100 내지 350 nm, 100 내지 300 nm, 100 내지 250 nm, 100 내지 200 nm, 150 내지 500 nm, 150 내지 450 nm, 150 내지 400 nm, 150 내지 350 nm, 150 내지 300 nm, 150 내지 250 nm, 150 내지 200 nm, 예를 들어, 200 nm인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0031] 본 명세서 상 용어 “상피-중간엽 전이 (epithelial-mesenchymal transition; EMT)”란, 상피세포가 세포극성 (cell polarity) 및 세포-세포 부착성 (cell-cell adhesion)을 잃고 전이성 및 침윤성을 획득하여 다양한 형태의 세포로 분화할 수 있는 다분화능 간질세포 (multipotent stromal cell)인 중간엽세포화하는 과정을 의미한다. 상기 EMT는 중배엽 형성 (mesoderm formation) 및 신경관형성 (neural tube formation)을 포함한 많은 발달과정에 필수적이다. 또한 EMT는 상처 치유 (wound healing), 조직의 섬유화 (organ fibrosis) 및 암진행 (cancer progression)에 있어서 전이 (metastasis)의 개시 (initiation)에 관여하는 것으로 알려져 있다.
- [0032] 본 명세서 상 용어 “중간엽-상피 전이 (mesenchymal-epithelial transition; MET)”란, 상피-중간엽 전이 (EMT)의 역과정이며 정상적인 발달, 유도된 다능성 줄기 세포 재프로그래밍, 암 전이 및 상처 치유에서 발생하는 것으로 나타났다.
- [0033] 본 발명에 있어서 EMT 유도는 비멘틴 (vimentin), α -SMA, FAK, N-카데린 (N-cadherin), DDR2, 데스민 (desmin), 파이브로넥틴 (fibronectin), 라미닌-5 (laminin-5), MMP-2, MMP-3, MMP-9, S100A4, 신데칸-1/CD138 (syndecan-1/CD138), 및 비트로넥틴 (vitronectin)으로 이루어진 군에서 선택되는 중간엽 마커의 발현 증가에 의해 나타나는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0034] 본 발명에 있어서 MET 유도는 팍실린 (paxillin), E-카데린 (E-cadherin), 액틴, ALCAM, β -카데닌 (β -catenin), 콜라겐 I, 사이토케라틴 8 (cytokeratin 8), 사이토케라틴 14, 사이토케라틴 19, EpCAM, 히알루로난 (hyaluronan), JAM-A, JAM-B/VE-JAM, JAM-C, JAM-4/IGSF5, 라미닌 I (laminin I), 넥틴-1 (nectin-1), 넥틴-2/CD112, 넥틴-3 및 넥틴-4로 이루어진 군에서 선택되는 상피 마커의 발현 증가에 의해 나타나는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0035] 본 발명에 있어서 세포는 암세포, 피부, 입, 코, 항문관, 호흡기계통, 소화기계통, 심혈관계통 및 림프계통으로 이루어진 군에서 선택되는 조직세포 또는 이의 전구체 세포인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0036] 본 명세서 상 용어 “암”은 세포의 정상적인 분열, 분화 및 사멸의 조절 기능에 문제가 발생하여 비정상적으로 과다 증식하여 주위 조직 및 장기에 침윤하여 암 조직을 형성하고 기존의 구조를 파괴하거나 변형시키는 상태를 의미한다. 상기 암은 발생한 부위에 존재하는 원발암과 상기 발생 부위로부터 신체의 다른 장기로 퍼져나간 전이암으로 구분된다.
- [0037] 상기 암은 예를 들어 대장암, 췌장암, 위암, 간암, 유방암, 자궁경부암, 갑상선암, 부갑상선암, 폐암, 비소세포

포성폐암, 전립선암, 담낭암, 담도암, 비호지킨 림프종, 호지킨 림프종, 혈액암, 방광암, 신장암, 난소암, 흑색 종, 결장암, 골암, 피부암, 두부암, 자궁암, 직장암, 뇌종양, 항문부근암, 나팔관암종, 자궁내막암종, 질암, 음 문암종, 식도암, 소장암, 내분비선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 수뇨관암, 신장세포 암종, 신장 골반 암종, 중추신경계(CNS central nervous system) 종양, 1차 CNS 림프종, 척수 종양, 뇌간 신경교종 또는 뇌하수체 선종을 의미할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0038] 본 발명의 다른 일 양태는 상피-중간엽 전이 (epithelial-mesenchymal transition; EMT) 및 중간엽-상피 전이 (mesenchymal-epithelial transition; MET)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 전이를 유도하는 세포 배양 방법에 관한 것이다.

[0039] 본 발명에 있어서 세포 배양 방법은 자성 나노입자를 세포와 결합시키는 결합 단계; 및 자성 나노입자와 결합한 세포에 자기장을 가하는 극성유도 단계를 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0040] 본 발명에 있어서 결합 단계는 나노입자를 세포의 인테그린 (integrin)에 결합하는 단계를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0041] 본 발명에 있어서 나노입자를 세포의 인테그린 (integrin)에 결합하는 단계는 세포의 인테그린에 $\beta 1$ 서브유닛 항체 ($\beta 1$ subunit antibody Ab), 콜라겐-바인딩 인테그린 항체 (Collagen-binding integrin Ab), RGD 인식 인테그린 (RGD-recognizing integrins Ab), 라미닌 결합 인테그린 항체 (laminin-binding integrins Ab) 및 백혈구 인테그린 항체 (leukocyte integrins Ab)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 항체를 결합하는 단계를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0042] 본 발명에 있어서 콜라겐-바인딩 인테그린 항체는 $\alpha 1\beta 1$ Ab, $\alpha 2\beta 1$ Ab, $\alpha 10\beta 1$ Ab 및 $\alpha 11\beta 1$ Ab으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0043] 본 발명에 있어서 RGD 인식 인테그린 항체는 $\alpha 5\beta 1$ Ab, $\alpha V\beta 1$ Ab, $\alpha V\beta 2$ Ab, $\alpha V\beta 5$ Ab, $\alpha V\beta 6$ Ab, $\alpha V\beta 8$ Ab, 및 $\alpha IIb\beta 3$ Ab으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0044] 본 발명에 있어서 라미닌 결합 인테그린 항체는 $\alpha 3\beta 1$ Ab, $\alpha 6\beta 1$ Ab, $\alpha 7\beta 1$ Ab 및 $\alpha 6\beta 4$ Ab으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0045] 본 발명에 있어서 백혈구 인테그린 항체는 $\alpha L\beta 2$ Ab, $\alpha M\beta 2$ Ab, $\alpha X\beta 2$ Ab 및 $\alpha D\beta 2$ Ab으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0046] 본 발명에 있어서 자성 나노입자는 Fe_3O_4 , FeO , Fe_2O_3 , $CoFe_2O_4$, $NiFe_2O_4$, $MnFe_2O_4$, TiO_2 , ZrO_2 , CeO_2 , Al_2O_3 및 MgO 로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 금속산화물 나노입자인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0047] 본 발명에 있어서 자성 나노입자의 평균 입경은 10 내지 500 nm, 10 내지 450 nm, 10 내지 400 nm, 10 내지 350 nm, 10 내지 300 nm, 10 내지 250 nm, 10 내지 200 nm, 50 내지 500 nm, 50 내지 450 nm, 50 내지 400 nm, 50 내지 350 nm, 50 내지 300 nm, 50 내지 250 nm, 100 내지 500 nm, 100 내지 450 nm, 100 내지 400 nm, 100 내지 350 nm, 100 내지 300 nm, 100 내지 250 nm, 100 내지 200 nm, 150 내지 500 nm, 150 내지 450 nm, 150 내지 400 nm, 150 내지 350 nm, 150 내지 300 nm, 150 내지 250 nm, 150 내지 200 nm, 예를 들어, 200 nm인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0048] 본 발명에 있어서 자기장은 200 Oe 내지 600 Oe (에르스텟), 200 Oe 내지 550 Oe, 200 Oe 내지 500 Oe, 200 Oe 내지 450 Oe, 200 Oe 내지 400 Oe, 250 Oe 내지 600 Oe, 250 Oe 내지 550 Oe, 250 Oe 내지 500 Oe, 250 Oe 내지 450 Oe, 250 Oe 내지 400 Oe, 250 Oe 내지 350 Oe, 250 Oe 내지 300 Oe, 300 Oe 내지 600 Oe, 300 Oe 내지 550 Oe, 300 Oe 내지 500 Oe, 300 Oe 내지 450 Oe, 300 Oe 내지 400 Oe, 300 Oe 내지 350 Oe, 350 Oe 내지 600 Oe, 350 Oe 내지 550 Oe, 350 내지 500 Oe, 350 내지 450 Oe, 350 내지 400 Oe, 예를 들어, 400 Oe인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0049] 본 발명에 있어서 EMT 유도는 비멘틴 (vimentin), α -SMA, FAK, N-카데린(N-cadherin), DDR2, 테스민 (desmin), 파이프록틴 (fibronectin), 라미닌-5 (laminin-5), MMP-2, MMP-3, MMP-9, S100A4, 신데칸-1/CD138 (syndecan-1/CD138), 비트로넥틴 (vitronectin) 및 스네일 (snail)로 이루어진 군에서 선택되는 중간엽 마커의 발현 증가에 의해 나타나는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0050] 본 발명에 있어서 MET 유도는 팍실린 (paxillin), E-카데린 (E-cadherin), 액틴, ALCAM, β -카데닌 (β -catenin), 콜라겐 I, 사이토케라틴 8 (cytokeratin 8), 사이토케라틴 14, 사이토케라틴 19, EpCAM, 히알루로난

(hyaluronan), JAM-A, JAM-B/VE-JAM, JAM-C, JAM-4/IGSF5, 라미닌 I (laminin I), 넥틴-1 (nectin-1), 넥틴-2/CD112, 넥틴-3 및 넥틴-4로 이루어진 군에서 선택되는 상피 마커의 발현 증가에 의해 나타나는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0051] 본 발명의 또 다른 일 양태는 세포의 상피-중간엽 전이 (epithelial-mesenchymal transition; EMT) 및 중간엽-상피 전이 (mesenchymal-epithelial transition; MET)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 전이를 유도 판별할 수 있는 세포 전이 유도 판별 약물 스크리닝 방법이다.

[0052] 본 발명에 있어서 약물 스크리닝 방법은 자성 나노입자를 세포와 결합시키는 결합 단계; 자성 나노입자와 결합한 세포에 자기장을 가하는 극성유도 단계; 약물 후보물질을 처리 또는 비처리하여, 상기 청구항 1항의 세포 배양 시스템에 세포를 추가로 배양하는 단계; 약물 후보물질 처리 세포 및 비처리 세포의 국소부착 관련 단백질 발현수준을 확인하여 비교하는 비교 단계; 및 약물 후보물질 비처리 세포에 비해 약물 후보물질을 처리하여 배양한 세포에서 국소부착 관련 단백질 발현 수준이 증가 또는 감소한 경우 약물 후보물질을 해당 세포에 대한 약효를 갖는 것으로 판단하는 단계를 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0053] 본 발명에 따른 세포 배양 시스템 및 이를 이용한 세포 배양 방법은 자성 나노입자에 작용하는 자기장의 결과인 물리적 자극을 통해 세포 극성에 영향을 주어 암세포의 상피-중간엽 전이와 중간엽-상피 전이를 동시에 제어할 수 있으며, 세포 극성을 변화하여 세포의 특성을 변화시킬 수 있다.

[0054] 따라서, 본 발명은 각 세포 상태에 따른 진단, 항암 표적 약물 개발 등 다양한 분야에 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0055] 도 1은 Fe_3O_4 나노입자의 합성 단계별로 형상을 확인한 결과를 보여주는 도이다.

도 2는 Fe_3O_4 -Au 셸 (shell) 나노입자의 자화율을 측정한 결과이다.

도 3은 Fe_3O_4 -Au 셸 (shell) 나노입자에 인테그린을 결합한 후 푸리에 변환 적외선 분광법 (FTIR)으로 인테그린 리셉터가 붙어있는지를 확인한 결과이다.

도 4은 MCF10A(위)와 MDA-MB-231(아래)에 부착된 자성 입자의 SEM 이미지로서 200 Oe, 300 Oe 및 500 Oe의 자기장을 처리한 결과를 보여주는 도이다.

도 5는 인테그린 서브유닛에 의해 표면이 변형된 무기 자성 나노입자 (Inorganic magnetic nanoparticles, 이하, MNP)에 자기장을 가하여 세포 극성을 섭동시키는 과정을 나타낸 모식도이다.

도 6은 400 Oe의 외부 자기장을 가한 후의 MCF10A 세포와 MDA-MB-231 세포의 전자 (electron) 및 원자력 현미경 사진 (atomic force micrographs AFM)과 자성 나노입자를 부착한 후 자기장이 없는 상태의 전자 및 원자력 현미경 사진을 각각 보여 준다.

도 7은 자기장 처리 유무에 따른 MCF10A 및 MDA-MB-231 세포의 골격 재배열을 보여준다.

도 8은 MCF10A 및 MDA-MB-231 세포주의 인테그린 부착 유/무에 따른 나노입자 및 자기장에 의한 영향을 측정한 SEM 현미경 결과를 보여주는 도이다.

도 9는 MCF10A 및 MDA-MB-231 세포주의 면역형광현미경 측정 결과를 나타내는 도이다.

도 10은 MCF10A 및 MDA-MB-231 세포주에 대한 베어 (Bare), 인테그린 매개 MNP (integrin mediated MNPs), 외부 자기장 (400 Oe)을 가한 MNP 세트를 사용하여 실시한 상처 치유 분석 결과를 보여주는 도이다.

도 11은, 자기장 유/무 (on/off)에 따른 MCF10A 및 MDA-MB-231 세포의 영탄성계수 E를 보여주는 히스토그램이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0056] 이하, 본 발명을 하기 실험예 및 제조예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실험예 및 제조예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실험예 및 제조예에 의해 한정되는 것은 아니다. 또한, 이들 실험예 및 제조예는 본 발명에 대한 이해를 돕기 위한 목적일 뿐이므로, 어떤 의미로든 본 발명의 범위가 이들에 의해 제

한되는 것은 아니다.

[0058] **제조예 1. Fe_3O_4 나노입자의 합성**

[0059] 게질 폴리올법으로 Fe_3O_4 나노입자를 합성하였다. Fe 전구체로는 2 mmol의 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 수산화이온 공급원으로 6 mmol의 아세트산나트륨 (sodium acetate)과 150 mmol의 탈이온수, 용매로는 50 mL의 에틸렌 글리콜 (ethylene glycol)을 사용하였다. 화학 물질은 초음파 처리로 수용액으로 완전히 용해시켰다. 그 다음 15분 동안 격렬하게 교반하여 혼합하였다. 용액을 200 ° C까지 가열하고 기계적으로 교반하면서 3.5시간 동안 환류 시켰다. 그 다음 환류 된 용액을 실온으로 냉각하고 에탄올로 세척한 후 최소 3회 원심 분리하여 부산물을 제거하였다.

[0060] 도 1은 Fe_3O_4 나노입자의 합성 단계별로 형상을 확인한 결과이다. 도 1a는 산화철 나노입자, 도 1b는 금나노입자가 붙은 산화철 나노입자, 도 1c는 산화철 나노입자에 붙은 금 나노입자가 성장하여 금 셸이 만들어진 형상을 나타낸다.

[0061] 도 2는 Fe_3O_4 -Au 셸 (shell) 나노입자의 자화율을 측정한 결과이다.

[0063] **제조예 2. 인테그린 항체 결합을 이용한 Fe_3O_4 -Au 코어-셸 나노입자의 기능화**

[0064] Fe_3O_4 -Au 셸 (shell) 나노입자를 인테그린 수용체와 결합시켜 나노입자와 세포 사이에 강한 결합력을 부여하여 세포에 자기 인력을 유도하였다. Fe_3O_4 -Au 셸 나노입자 1 mL를 200 μL 의 티올-PEG-카복실로 3시간 동안 흔들면서 덮었다. 폐길화 후, 용액을 탈이온수로 5회 이상 세척하고 원심분리한 후 탈이온수 1mL에 분산시켰다. 그런 다음 폐길화 나노입자에 20mM N-(3-디메틸아미노프로필)-N'-에틸카보디이미드 염산염 (EDC) 50 μL 와 20mM N-하이드록시설포석시니마이드 (NHS) 50 μL 를 첨가하여 1시간 동안 흔들어 활성화시켰다. 아미노기 활성화 용액을 탈이온수로 세척하고 원심 분리한 후 탈이온수 1 mL에 현탁시켰다. 활성화된 나노입자는 최종적으로 항-인테그린 $\beta 1$ 및 항-인테그린 $\alpha v \beta 3$ 와 결합되었다. 인테그린 수용체와 나노입자의 접합체는 지정된 세포와 특이적으로 결합한다. 인테그린 $\beta 1$ 수용체는 MCF10A와 결합하고, 인테그린 $\alpha v \beta 3$ 수용체는 MDA-MB-231과 결합하였다.

[0065] 도 3은 Fe_3O_4 -Au 셸 (shell) 나노입자에 인테그린을 결합한 후 푸리에 변환 적외선 분광법(FTIR)으로 인테그린 리셉터가 붙어있는지를 확인한 결과이다. 인테그린 수용체 부착 전 시료는 갈색으로 나타내었다. 인테그린 수용체 결합 후(보라색) 1213 cm^{-1} 에서 C-N 연신 진동 피크, 표면 기능화로 인한 1070 cm^{-1} 에서 C-O 연신 진동 피크, 653 cm^{-1} 에서 평면을 벗어난 N-H 굽힘 진동 피크, 640 cm^{-1} 에서 평면을 벗어난 C=O 굽힘 진동 피크, 623 cm^{-1} 에서 인테그린 수용체 내 단백질에서 평면을 벗어난 C-H 굽힘 진동 피크가 관찰된다.

[0067] **제조예 3. 투과 전자 현미경(TEM)**

[0068] 명시야 (bright-field) TEM 이미지는 200kV의 TEM(JEM-F200, JEOL)을 사용하여 얻었다. 샘플 준비를 위해 0.1 mg/mL 농도의 용액 10 μL 를 탄소로 코팅된 구리 그리드에 떨어뜨렸다. 샘플은 40 ° C 오븐에서 하룻밤 동안 그리드에 흡착되었다. 나노입자 크기는 Image J의 TEM 이미지에서 $n = 50$ 부터 측정하고, 가우스 분포로 개수를 맞춰 평균값을 계산하였다.

[0070] **제조예 4. 세포 배양**

[0071] MCF10A 유방 상피 세포는 ATCC에서 구입하여 유방 상피 세포 성장 배지 (MEGM, 스위스 론자)에서 배양하였다. 완전한 성장 배지를 준비하기 위해 이 세포주의 기본 배지에 첨가제 MEGM 키트와 콜레라 독소 B 서브유닛 (100ng mL^{-1}) (미국 시그마-알드리치, 미국)을 추가하였다. MDA-MB-231 전이성 유방암 세포는 ATCC (미국 버지니아주 마나사스)에서 구입하여 10% FBS (미국 킵코)와 페니실린-스트렙토마이신 (0.01 mg mL^{-1} 내지 1)을 첨가한 둘베코의 변형 이글스 배지 (Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM; 미국 킵코)에서 배양하였다 (Invitrogen, 미국). MCF10A 및 MDA-MB-231 세포주는 5% CO_2 가 포함된 가습된 환경, 37° C에서 배양하였다. 세

포 해리를 위해 0.25% 트립신-EDTA (김코, 미국)로 처리한 후 MCF10A 세포를 37° C에서 10분간 배양하였다. 배양 후 트립신을 중화하기 위해 0.1% 대두 트립신 억제제 (3mL)(김코, 미국)를 첨가하였다. 세포 펠릿을 100 × g에서 5분간 원심분리한 후 완전한 배양액에 현탁하였다. 면역 형광 현미경 및 AFM의 경우, 시딩 농도는 24개 웰 플레이트에서 3×10^4 세포/유리 기질로 설정하였다. 웨스턴 블로팅의 경우, 시딩 농도는 60mm 배양 접시당 1×10^6 세포였다. 세포의 극성을 교란시키기 위해 세포로 현탁액을 만들어 기능화된 MNP를 시딩하였다. 12시간의 자연 배양 후 400 Oe를 12시간 동안 도포하여 반응 배양을 실시하였고, 웨스턴 블로팅에서는 0.4% Trypan Blue(Invitrogen)와 자동 세포 계수기 (EVE-MC2, 한국 나노엔텍)를 사용하여 4일째에 Trypan Blue 배제법을 이용하여 세포 생존율을 정량화하였다.

[0073] **제조예 5. 자기장 선택**

[0074] 인간 유방 유래 정상 상피 세포주 MCF10A와 동일 유래 간엽유사세포인 유방암 전이암 세포주 MDA-MB-231을 대상으로 두 세포의 자기장에 의한 세포 극성 교란을 평가하기 앞서, 가장 적합한 자기장을 선택하였다.

[0075] 도 4는 MCF10A(위)와 MDA-MB-231(아래)에 부착된 자성 입자의 SEM 이미지로서 200 Oe, 300 Oe 및 500 Oe의 자기장을 처리하였다.

[0076] 500 Oe의 경우 입자가 자기장에 강하게 반응하여 세포막에 붙어 있는 경우가 있었다. 하지만 강한 힘으로 인해 정렬된 상태로 존재하였으며, 자기장 및 대부분의 입자는 세포막에 결합되어 있지 않았다. 이에 비해 200 Oe, 300 Oe의 경우 세포막에 너무 많은 입자가 부착되어 대부분의 입자가 세포막에 부착되었다. 따라서, 평가를 위한 자기장으로 400 Oe를 선택하였다.

[0078] **실시예 1. 자성에 의한 세포 극성 교란 평가**

[0079] 인간 유방 유래 정상 상피 세포주 MCF10A와 동일 유래 간엽유사세포인 유방암 전이암 세포주 MDA-MB-231을 대상으로 두 세포의 자기장에 의한 세포 극성 교란을 평가하였다.

[0080] 정상세포인 MCF10A는 세포 부착 및 기질과의 세포-세포 결합에 특화된 $\beta 1$ 서브유닛 항체 ($\beta 1$ subunit antibody Ab)를 사용하였다. 전이성 암세포인 MDA-MB-231는 신생혈관 성장과 운동성에 관여하는 avb3 인테그린 Ab (avb3 integrin Ab)를 사용하였다.

[0082] 도 5는 인테그린 서브유닛 (integrin subunit)에 의해 표면이 변형된 무기 자성 나노입자 (magnetic nanoparticles, 이하, MNP)에 자기장을 가하여 세포 극성을 섭동 시키는 과정을 나타낸 모식도이다. 먼저, 세포 부착 부위를 MNP를 이용해 3차원적으로 변경한다. 그 다음 MNP에 자기장을 가하여 정점-기저 극성 (apical-basal polarity)을 유도하고, 앞/뒤 극성을 운동성에 특화시킨다.

[0083] 도 5A는 Au 씨드 (Seed)가 있는 Fe_3O_4 코어 (core)와 Au 씨드로부터 성장한 Au 셸 (Shell)이 있는 Fe_3O_4 코어의 원소 매핑 분석 결과이다. Fe_3O_4 코어 (빨간색)는 Au 씨드 (사파이어)로 덮인 SiO_2 층 (주황색)이 있다. Au 씨드가 있는 Fe_3O_4 코어의 Au 씨드가 Au 셸 (사파이어)로 성장한 모습을 확인할 수 있다 (눈금 막대 100 nm). 도 5B는 자성 나노입자 합성 과정 및 인테그린 항체의 기능화를 모식화하였다. 도 5C는 세포 극성의 교란에 의해 유도된 세포의 하이브리드 E/M 상태 및 MET 반응을 모식화하였다. 세포막에 특이적으로 결합된 나노입자에 가해지는 외부 자기장은 세포에 자극으로 작용하고, 이러한 자극은 세포 극성 교란을 일으키게 된다.

[0084] 인테그린 항체로 Au 셸을 변형하여 합성한 초상자성 산화철 나노입자 (Superparamagnetic iron oxide nanoparticles, SPION)를 기능화하였다. SiO_2 셸로 둘러싸인 Fe_3O_4 나노입자로 내부코어를 구성하였다. Au 씨드를 SiO_2 셸 코어의 표면에 부착하고 금-티올 반응 (gold-thiol reaction)을 통해 링커를 형성하는 Au 셸로 성장시켰다. 그 다음, 이 Au 셸을 EDC/NHS로 활성화하여 아마이드 결합 (amide bonding)을 통해 인테그린 서브유닛 Ab를 기능화하였다. 인테그린이 변형된 SPION은 세포막에 선택적으로 부착할 수 있다.

[0085] 인테그린을 통해 세포막에 부착된 나노입자는 세포에 작용하는 외부 자기장을 인식한다. 또한, 세포는 세포막 상단에 작용하는 자기장으로 인해 세포막을 위아래로 잡아당기는 외부의 힘을 감지한다. 결과적으로 자기장의

동시 작용으로 나노입자가 위로 당겨지고, 세포 바닥면과 세포 자체 사이의 접착력이 세포의 정점-기저 양극을 만들어 세포의 형태 변화를 유도할 수 있다.

[0087] 실시예 2. 자성 나노입자 및 자기장의 외부 자극을 통해 유도되는 세포의 형태학적 변화

[0088] 상피 조직의 온전함과 역할은 세포의 극성에 의존한다. 조직의 특성이 붕괴되면 상피 세포는 정체성을 잃고, 조직 장애, 암 침습성과 같은 병리학적인 상태를 유발한다. 이러한 이유로 세포 극성의 변화는 진행성 침습성 암의 주요 특징으로 간주된다.

[0089] 상피세포-중간엽세포 전이 (Epithelial-mesenchymal transition, EMT) 및 중간엽세포-상피세포 전이 (mesenchymal-epithelial transition, MET)는 세포 이동에 도움이 되는 형태에 적응하기 위해 세포의 복잡한 재프로그래밍이 필요한 상피 가소성 단계의 순환적인 과정이다. 이 과정에서 상피의 특성, 특히 정점-기저 극성 (apical-basal polarity)이 사라진다. 또한 운동성 증가와 같은 중간엽 세포의 특성은 세포의 침습 능력과 앞뒤 극성을 향상시킨다. 상피-중간엽 가소성의 핵심 특징은 상피 세포가 세포 극성의 변화를 통해 전환을 겪는다는 것이다. 부분 EMT에 의해 유도된 중간형 표현형을 가진 세포는 중간엽과 상피 특성을 동시에 가질 수 있으며, 세포 간 부착이 유지되어 집단적인 세포 이동을 보이는 경우가 많다.

[0090] EMT 또는 MET를 통한 전이 과정에서 세포는 세포 극성의 세포 골격 리모델링 변형과 같은 급격한 변화를 겪는다. 이러한 상황에서 세포는 하이브리드 E/M 상태의 E/M 가소성으로 인해 더 기울어진 상피 특성을 갖거나 그 반대의 경우 중간엽 특성을 과도하게 발현할 수 있다.

[0091] 이에, 외부 자기장에 의해 유도된 세포의 극성 교란으로 인한 반응을 세포 내 바이오마커의 발현 변화 및 세포 형태를 포함한 물리적 특성을 평가함으로써 확인하였다.

[0092] 도 6은 상피 세포인 MCF10A (도 6A와 도 6B) 및 중간엽 유사 세포인 MDA-MB-231 (도 6C와 도 6D)의 주사전자현미경 (electron microscopy, SEM) 이미지이다. 두 가지 유형의 세포를 수성 조건에서 원자력 현미경 (atomic force micrographs, AFM) 이미지로 촬영하였다 (도 6E 및 도 6F: 상피형 MCF10A 세포, 도 6G 및 도 6H: 중간엽 유사 MDA-MB-231 세포). 위쪽 줄은 자기장이 없는 정상 조건에서 촬영한 이미지이고, 아래쪽 줄은 400 Oe 자기장의 외부 자극을 가한 이미지이다 (눈금 막대는 20 μ m). 도 6을 통해 정상 상태와 자기장 적용 후 세포의 형태학적 차이를 확인할 수 있다.

[0093] 자기장에 의해 교란된 MCF10A는 자기장에 노출되기 전보다 길쭉한 스핀들 모양으로 변화하였다 (도 3A, 도 3B, 도 3E 및 도 3F). 도 3에 나타난 SEM 및 AFM 이미지는 자기장으로 인해 자성 입자가 세포에 가하는 자극이 세포의 모양 변화를 유도한다는 것을 보여준다. 변화된 상피세포인 MCF10A의 형태는 중간엽 유사 세포인 MDA-MB-231의 정상 상태와 유사했지만, 여전히 길쭉한 타원형의 형태를 유지하였다. 반면, MDA-MB-231 세포 (도 6C, 도 6D, 도 6G 및 도 6H)에서는 라멜리포디아 (lamellipodia)가 세포 경계의 판 모양으로 확장되어 세포의 운동성, 이동, 기계 감지 등에 중요한 역할을 하며 세포 주위에 광범위하게 퍼져 있었다. 또한, MDA-MB-231 세포의 형태는 불규칙한 타원형으로 변화하였다.

[0095] 또한, 자기장 조건의 유/무에 따른 MCF10A 세포와 MDA-MB-231 세포의 물리적인 특징을 비교하였다. 세포주는 동일하게 각각 인테그린이 부착된 MCF10A (MCF10A with $\alpha 1\beta 1$ -MNPs) 및 MDA-MB-231 (MDA-MB-231 $\alpha v\beta 3$ -MNPs)을 사용하였다.

[0096] 도 7은 MCF10A 세포와 MDA-MB-231 세포의 세포 내 세포골격 재배열을 촬영한 AFM 사진이다. 도 7a-1, 7a-2, 7b-1 및 7b-2는 자성 나노입자가 없는 상태에서 자기장이 가해지지 않은 대조군이다. 자기장을 가한 후 세포의 모양은 정상 상태 (도 7a-3, 도 7a-4, 도 7b-3 및 도 7b-4)와 비교한 결과 (도 7a-5, 도 7a-6, 도 7b-5 및 도 7b-6)로 나타내었다. 상피세포인 MCF10A는 세포막 밖으로 세포 골격이 튀어나와 강하게 정렬된 모습 (도 7a-5 및 도 7a-6)을 나타내었으며, 전이성 암세포인 MDA-MB-231은 길쭉한 스핀들 모양 (도 7b-3 및 도 7b-4)에서 넓게 퍼진 모양 (도 7b-5 및 도 7b-6)으로 전환되는 것을 확인할 수 있다 (눈금 막대는 10 μ m). 도 7의 AFM 이미지에서는 세포의 각 부분에서 측정된 잘 정렬된 세포골격으로 인한 외막 돌출을 확인할 수 있다. 이는 액틴 필라멘트 네트워크에 의한 막 주름 형성 및 막과 기질과의 상호작용에 의한 세포 내 액틴 정렬과는 다른 양상을 보이는 것으로 확인되었다. 외부 자기장을 가한 후의 세포 (도 7a-5 및 도 7a-6)는 세포막 외부에서 발현되는 길고 평행하며 두껍게 재구성된 세포 내 액틴 세포 골격의 동적 이미지를 보여주었다. 측정된 세포의 각 부분에서

는 세포막의 주름진 상태와는 다르게 세포막이 돌출되어 잘 정렬된 세포 골격이 확인되었다.

[0097] MDA-MB-231 세포 (도 7b-3, 도 7b-4, 도 7b-5 및 도 7b-6)의 경우 MCF10A 세포와 달리 세포막의 가장자리가 주름지고 두꺼워졌다. 라멜리포디아 및 세포막 주름은 세포 내 액틴 필라멘트로 구성된 세포 돌출부로서, 세포에서 관찰되는 가장 초기의 구조적 변화이다. 이러한 구조는 세포 이동을 주도하고 접착 기반 중간엽 이동 모드를 도입할 수 있는 세포의 가장자리를 특징 짓는다.

[0098] 이를 통해, 자기장에 의한 외력이 세포 내 극성 교란을 유도함을 확인하였다. 특히, 상피 세포에서 중간엽 세포로의 전환은 세포의 물리적 특성의 변화의 결과이며, 액틴 세포 골격의 재구성으로 이어지며, 상피 세포의 세포 골격의 변화의 결과는 MCF10A 세포가 상피세포와 중간엽 표현형이 공존하는 하이브리드 E/M 상태에서 중간엽 특성보다 상피세포의 형태학적 특징이 더 강하게 발현됨을 확인하였다. 또한 외부 자극은 세포 극성 교란을 유도하고 세포 내 신호 전달에 영향을 미쳐 상피 세포의 중간엽 전이를 유도하고 결과적으로 세포 내 생리 활성에 급격한 변화를 일으키는 것을 확인할 수 있었다.

[0100] 또한, 세포 미세 환경의 예상되는 변화에 따라, 세포막의 인테그린이 나노입자와 자기장에 의한 세포 극성 교란을 감지하는지 여부를 확인하였다. 인테그린 자극이 세포 변형을 유도하는 주요 경로인지 확인하기 위해 면역글로불린 G (IgG) 기능화 나노입자를 대조군으로 사용하였다.

[0101] 도 8은 MCF10A 및 MDA-MB-231 세포주의 SEM 이미지이다. 두 세포주 모두 인테그린과 IgG가 모두 부착된 나노입자는 400 0e 자기장이 가해졌을 때 형태학적 변화를 나타내었으나, 인테그린의 부착 없이 IgG만 부착된 나노입자는 400 0e 자기장이 가해졌을 때 큰 형태학적 변화를 보이지 않았다.

[0103] 실시예 3. 상피/중간엽 혼합 상태의 공초점 형광 이미징 및 상피/중간엽 전이 관련 단백질의 발현 수준 평가

[0104] 상피/중간엽 혼합 표현형 (hybrid epithelial/mesenchymal phenotype, 이하, 하이브리드 E/M)은 상피와 중간엽 마커를 모두 발현하는 것을 의미하며, 높은 종양원성 특성을 나타내는 EMP (epithelial-mesenchymal plasticity)가 전이 과정에서 직면하는 다양한 환경에 적응할 수 있도록 하며, 종양 증식에 중요한 역할을 한다. 또한, 전이 과정에서 암세포는 침습성 표현형을 획득하여 주변 기질과 혈관을 침범하고 혈관 내로 침입한다. 암세포는 혈관을 통해 이동하여 멀리 떨어진 장기의 미세 환경으로 혈관 외로 이동하여 적응하고 증식을 시작할 수 있는 외부 부위로 이동하게 된다. 중간엽 상태의 암세포는 가역적인 과정인 MET (mesenchymal-epithelial transition)를 통해 주변 세포와 다시 연결되고 정점-기저 극성을 회복함으로써 상피 특성을 다시 획득할 수 있다.

[0105] 조직 내 세포는 여러 유형의 접합 복합체의 방출을 통해 인접 세포 및 세포외기질 (extracellular matrix, ECM)의 접착 분자에 고정 및 부착되며, 막 통과 단백질에 고정되어 인접 세포의 세포 골격 및 세포외기질 내에 있는 단백질과 연결된다.

[0106] 도 9는 MCF10A 및 MDA-MB-231 세포주의 면역형광현미경 측정 결과를 보여주는 도이다. 팍실린 (paxillin), 비멘틴 (vimentin) 및 E-카데린 (E-cadherin)을 염색한 후 MCF10A (도 9A)와 MDA-MB-231 세포 (도 9C)의 이미지를 병합하여 나타내었다 (빨간색: 액틴, 녹색: EMT 바이오마커, 파란색: 핵) (눈금 막대는 10μm). 또한, MCF10A (도 9B) 및 MDA-MB-231 (도 9D) 세포주 모두에서 상기 팍실린, 비멘틴 및 E-카데린 단백질의 발현 수준을 웨스턴 블롯으로 평가하였다.

[0107] 평가 결과, 세포의 접착 접합부와 관련이 있는 팍실린 및 E-카데헤린은 발현이 증가하였으나, 세포 이동과 관련된 중간엽 세포의 바이오 마커인 비멘틴은 하향 조절된 것을 확인할 수 있었다 (도 9E). 이와 같은 발현 패턴은 세포 막에 결합하는 나노입자가 외부 자기장과 반응하고, 세포가 이 반응을 자극으로 인식하여 세포 극성 교란을 일으켜 세포 내 신호 경로에 영향을 준 것으로 판단된다. 세포 극성 교란으로 인하여 상피 세포와 중간엽 유사 세포 모두 더욱 강한 상피 특성을 나타내었다.

[0108] MCF10A 및 MDA-MB-231 세포주 모두에서 EMT 과정에 의한 강한 중간엽 특징을 강조하는 형태학적 변화 결과와 웨스턴 블롯 (도 9)에서 관찰된 정량적 단백질 분석 결과는 상피 특징이 서로 모순되게 나타났다. 상피와 중간엽 표현형의 중간 상태인 하이브리드 E/M 상태는 복잡한 전이 과정에서 암세포를 상피와 중간엽 표현형으로 단순 분류할 때 발생하는 모순된 결과를 설명할 수 있게 해준다.

[0109] 즉, 자성 나노입자에 자기장이 작용함에 따라 발생하는 세포 극성의 섭동이 상피 및 중간엽 유사 세포의 상피 특성을 증가시켰다.

[0111] 실시예 4. 자성 나노입자와 자기장의 외부 자극을 통해 유도된 세포의 이동

[0112] 하이브리드 E/M 상태는 상피와 중간엽 세포의 특성을 모두 가지고 있는 세포 상태를 말한다. 도 9의 웨스턴 블롯 분석에서 알 수 있듯이, 세포 극성을 교란하면 세포의 상피 특성이 증폭될 수 있다. 하지만 상피 세포와 혼합되어 있는 중간엽 세포의 특징을 확인하기 위해 체외에서 세포 이동을 연구하는 방법인 상처 치유 분석을 수행하였다. 상처 치유 분석 결과에서는 세포의 중간엽 세포의 뚜렷한 이동 특징을 확인할 수 있었다.

[0113] 구체적으로, 10 μ L 피펫 팁을 사용하여 세포 단층에 스크래치를 만들어 수행하였다. 그 다음, 세포가 얼마나 많은 세포들이 갭을 채우기 위해 이동하는지를 관찰하여 세포의 이동 속도를 측정하였다. 세포의 이동은 광학적으로 모니터링 되었으며, 다양한 시점에 노출되지 않은 영역의 감소를 측정하여 계산하였다. 세포 이동 속도는 세포가 없는 영역의 복원 또는 상처 봉합의 백분율로 표현할 수 있으며, 시간이 지남에 따라 세포가 이동함에 따라 봉합 영역이 증가한다. 따라서, 이동속도는 시간이 지남에 따라 상처 면적이 감소하는 것으로 평가할 수 있다.

[0114] 도 10은 두 가지 세포주인 MCF10A와 MDA-MB-231에 대해 베어 (Bare), 인테그린 매개 자성 나노입자 (integrin mediated MNPs), 외부 자기장 (400 Oe)을 가한 자성 나노입자 세트를 사용하여 실시한 상처 치유 분석 결과를 보여준다.

[0115] 자성 나노입자 처리 후 자기장을 가한 결과, 자기장을 가하지 않은 대조군 및 자성 나노입자 처리만 한 대조군에 비해 이동 속도가 현저히 증가했음을 보여준다 (도 10A). 이러한 간극 폐쇄의 가속화는 MDA-MB-231 세포를 사용한 경우에도 나타났다. 그리고 상처 폐쇄는 0시간 시점에 생성된 총 상처 면적 대비 시간이 지남에 따라 세포가 덮은 면적으로 나타났다 (도 10B)(눈금 막대는 2mm). 도 10C는 시간 경과에 따른 MCF10A 세포의 상처 폐쇄율 ($n=4-6$)을 나타낸다. 도 10D는 시간 경과에 따른 MDA-MB-231 세포의 상처 폐쇄율 ($n=4-8$)을 나타낸다.

[0116] MCF10A 세포주 (도 10A)의 경우 외부 자극이 없는 샘플보다 외부 자기장이 있는 경우 상처 폐쇄 속도가 더 빨랐다. 24시간 후 상처 폐쇄율은 400 Oe에서 $96.7 \pm 2.83\%$, MNP에서 $52.7 \pm 8.07\%$, 베어 상태에서 $70.0 \pm 6.31\%$ 로, 외부 자극이 세포 이동과 밀접한 관련이 있는 특성인 MCF10A 세포에서 중간엽 유사 행동을 증폭시킨다는 것을 확인할 수 있다 (도 10C).

[0117] MDA-MB-231 세포주 (도 10B)에서는 외부 자극이 없는 샘플보다 외부 자기장에 의해 상처 폐쇄율이 크게 증가하였다. 9시간 후, 400 Oe에서 상처 폐쇄율은 $98.5 \pm 0.8\%$ 로, MNP에서 $51.0 \pm 7.93\%$, 베어 상태에서 $45.5 \pm 13.6\%$ 에 비해 크게 증가하였다 (도 10D). 이 결과는 외부 자기 자극이 MDA-MB-231 세포에서도 중간엽과 유사한 행동을 향상시킨다는 것을 보여준다.

[0118] 결론적으로, 상처 치유 분석 결과 두 세포주 모두 외부 자기장이 있는 인테그린 매개 자성 나노입자가 있을 때 상처가 빠르게 닫히는 것으로 확인되었다. 이는 도 9의 웨스턴 블롯 결과와 대조적인데, 이는 비멘틴의 하향 조절을 보여주며, 세포주 내에 중간엽 특성이 감소했음을 나타낸다. 그러나 세포 운동성과 관련된 물리적 특성은 오히려 증가하였다. 이는 세포 극성의 교란이 상피와 중간엽 특성이 공존하는 하이브리드 E/M 상태를 초래한다는 것을 예측할 수 있다.

[0120] 실시예 5. 세포 강성에 대한 변화 분석

[0121] 세포의 물리적 특성은 세포의 생리학적 상태를 나타내는 강력한 마커로 인식되고 있다. 세포를 균질한 탄성 물질로 인식하고 영계수로 진단/평가하면 측정이 간편하고 처리량이 높은 물리적 지표로서 이종 세포의 표현형을 평가할 수 있다. 세포 강성은 암세포 변형성 및 악성도와 밀접한 관련이 있으며 세포 내 구조 단백질은 세포 핵 주변의 특정 영역에서 세포 강성을 강화할 수 있다. 암세포의 전이 능력 획득을 위한 EMT는 세포 신호 전달 및 세포의 기계적 변형에 의한 세포 구조 구성 조절과 관련이 있으며, 형태 및 세포 극성 등 세포의 물리적 특성에 영향을 미친다.

[0122] 이에, 상피와 중간엽 특성을 모두 가진 하이브리드 E/M 상태에서 지속적인 자극에 노출된 세포는 상실된 정점-기저 극성을 확보하여 상피 특성을 회복함으로써 EMT 이전의 정상 세포와 유사한 물리적 특성을 가질 수 있는지

평가하였다.

[0123] 도 11은 자기장 on/off에 대한 MCF10A 및 MDA-MB-231 세포의 영탄성계수 E를 보여주는 히스토그램이다. 자기장이 없는 조건 (상피, n = 36, 수집 지점 = 475, 중간엽 유사, n = 34, 수집 지점 = 413), 자기장 400 Oe 조건 (상피, n = 37, 수집 지점 = 513, 중간엽 유사, n = 54, 수집 지점 = 608)에서 수집한 두 세포의 E 히스토그램을 나타내었다.

[0124] 도 11의 히스토그램은 인테그린 결합, MNP 처리된 상피 MCF10A 및 중간엽 유사 MDA-MB-231 세포의 세포 탄성 측정치 (영탄성계수, E)를 나타낸다. 세포 핵의 가장 높은 지점에서 4×4 AFM 힘-거리 매핑 방법을 사용하여 각 세포주에서 데이터를 수집하고 40개 이상의 개별 세포에서 400개 이상의 데이터 포인트로부터 평균 E 값 (평균 $\pm$ s.d.)을 측정하였다.

[0125] 도 11에 표시된 결과는 각 세포 그룹의 탄성 평균값을 나타내며, 괄호 안의 값은 가우스 피팅 라인의 최고값을 나타낸다. 도 11에 표시된 결과는 각 세포군의 탄성 평균값을 나타내며 괄호 안의 값은 가우스 피팅 라인의 가장 높은 값을 나타낸다. 파란색은 MF free, 빨간색은 MF 400 Oe를 나타낸다. 각 세포주 및 조건에 따라 계산된 영탄성계수 (E) 값의 통계를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

세포 유형	MCF10A		MDA-MB-231	
	MF Free	MF 400 Oe	MF Free	MF 400 Oe
포인트 수 계산	475	513	413	608
평균 (kPa)	386.040	221.668	243.562	171.729
STDEV (kPa)	74.5859	43.691	48.298	52.927
Min (kPa)	214.440	127.140	138.300	56.760
Max (kPa)	584.850	354.510	418.530	299.320

[0128] 상기 표 1에서 확인할 수 있듯이, MCF10A는 자기장이 없는 경우와 자기장이 있는 경우의 평균 탄성이 각각 386.040 및 221.668 kPa로 나타났다. MCF10A의 세포 탄성은 400 Oe의 자기장을 가했을 때 약 절반으로 감소하였다. 그러나 MDA-MB-231 세포의 경우 자기장을 가한 후 평균값이 정상 상태의 70% 이하로 감소하였다. 표준편차를 통해 정상 상태의 MCF10A와 자기장 인가 조건의 MDA-MB-231에서 세포 탄성도의 높은 변동성을 확인할 수 있다.

[0129] 자기장이 없는 조건에서는 상피 세포의 탄성이 넓게 퍼진 반면, 400 Oe의 자기장에서는 세포가 좁고 델타형으로 변화하였다. 이 결과는 구조 분자의 세포 내 조절에 의해 새로운 세포 극성이 형성되어 세포의 강성이 약화된 것으로 유추할 수 있다. 흥미롭게도 두 세포주의 정상 상태에서의 탄성 분포는 MF-free 및 MF 400 Oe 조건에서 MCF10A의 탄성 분포와 유사하게 나타난다 (도 11A 및 도 11C). 마찬가지로 두 세포에 400 Oe의 자기장을 지속적으로 외부 자극을 가했을 때, 중간엽 유사 세포인 MDA-MB-231과 탄성 정도가 거의 일치하였다 (도 11B 및 도 11D).

[0130] 이 결과는 MCF10A 세포에 자기장에 의한 지속적인 외부 자극이 세포 극성 교란을 일으킨다는 것을 의미하며, 상피세포 MCF10A는 중간엽 유사 세포와 유사한 물리적 특성으로 변화한다.

[0131] 도 11의 정량적 단백질 분석 결과, 상피세포와 중간엽 유사 세포 모두에서 상피 바이오마커인 E-카데린의 상향 조절과 중간엽 바이오마커인 비멘틴의 하향 조절이 확인되었다. 또한 웨스턴 블롯 분석 결과, 두 세포주 모두 MET 과정을 통해 상피 특성을 가진 세포로 전환된 것으로 나타났다. 반면, 도 8의 AFM을 이용한 물성 분석 결과는 두 세포주 모두에서 EMT 과정의 중간엽 세포 특성이 우세한 것으로 나타났다.

[0132] 하이브리드 E/M 상태의 암세포는 자유롭게 이동하고 주변 세포와 접합을 형성할 수 있다.

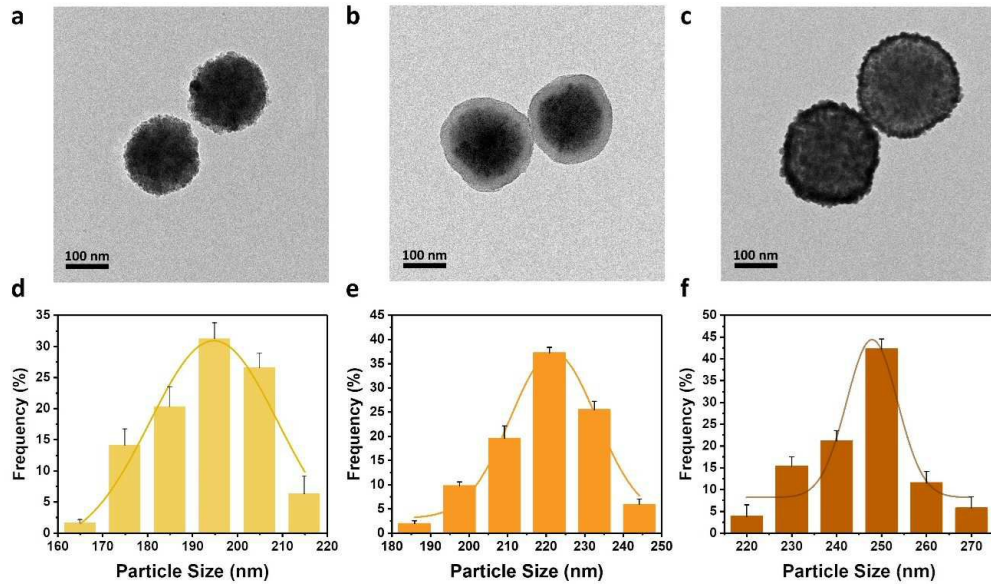
[0133] 극성 교란으로 인한 세포의 물리적 특성의 변화가 전자기 충격 과정에서 나타나는 세포의 특성 변화와 유사하다는 것을 확인시켜준다. EMP는 세포가 상피 또는 중간엽 등 어떤 상태로든 전환할 수 있다는 것을 의미한다. 세포 탄성에 대한 연구 결과, 하이브리드 E/M 상태의 암세포는 세포 접착력을 유지하고 운동성을 증가시키는 반면, 낮은 세포 탄성은 형태학적 변형을 촉진하는 것으로 확인되었다.

[0134] 결과적으로 이는 지속적인 극성 교란인 EMP의 결과가 상피세포와 간엽세포에 관계없이 세포의 물리적 특성을 유

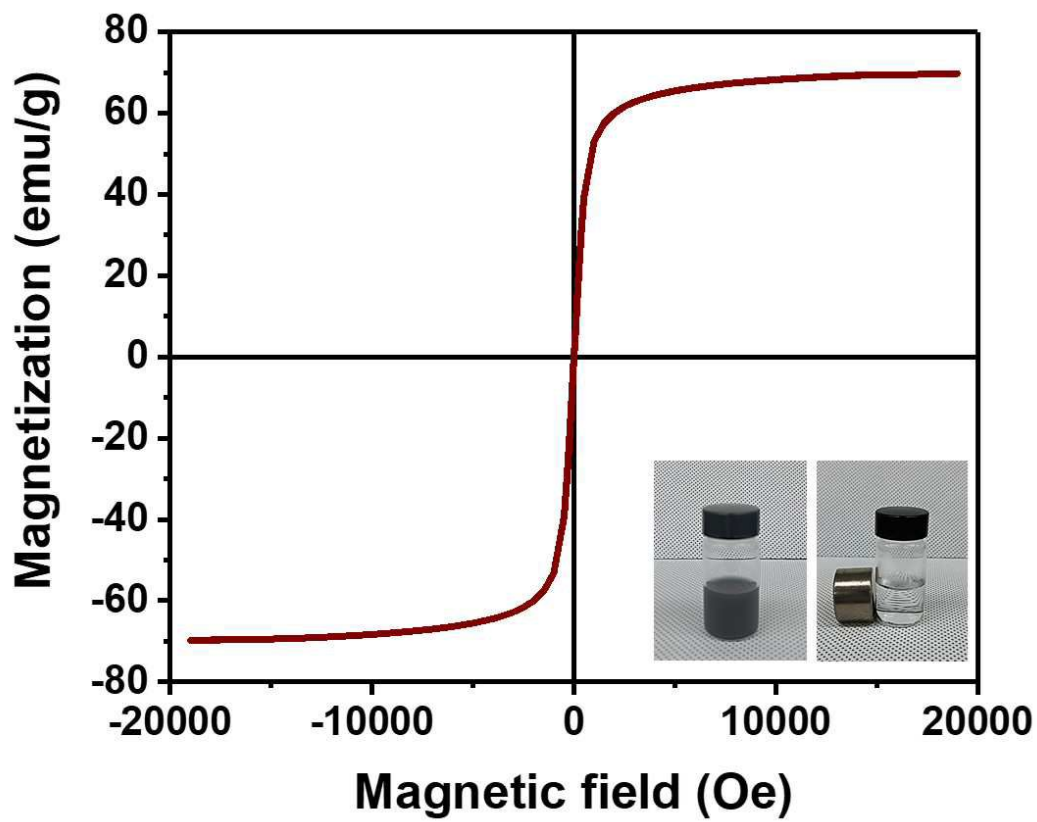
사하게 변화시킨다는 것을 의미한다.

도면

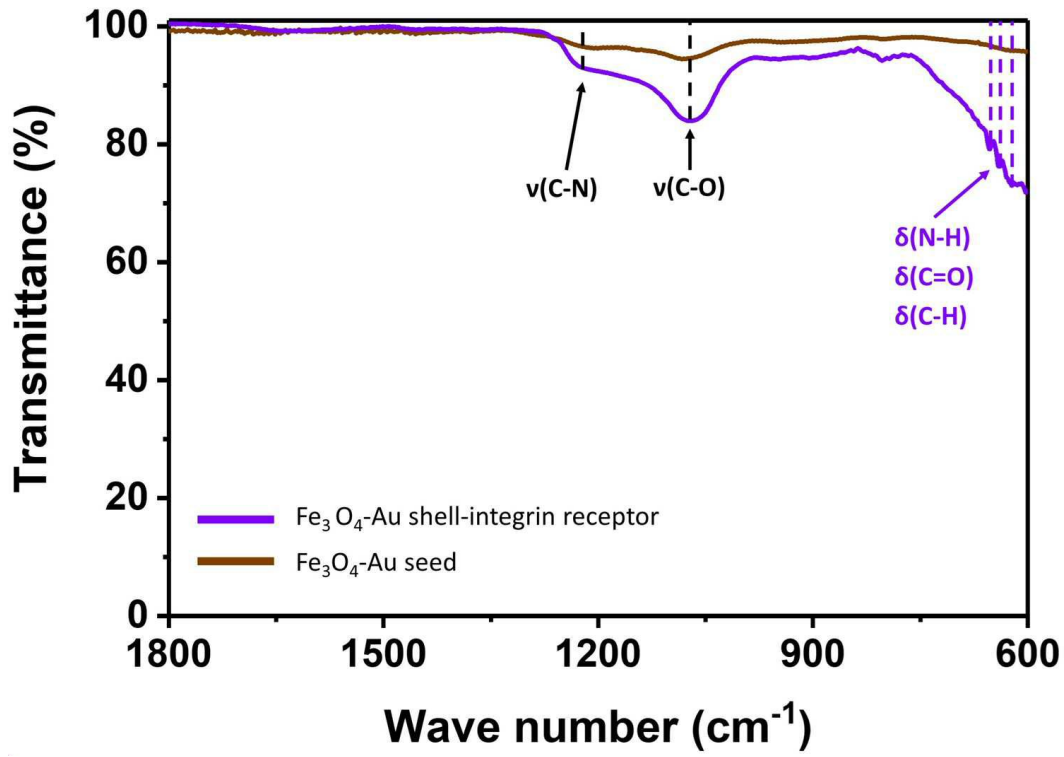
도면1



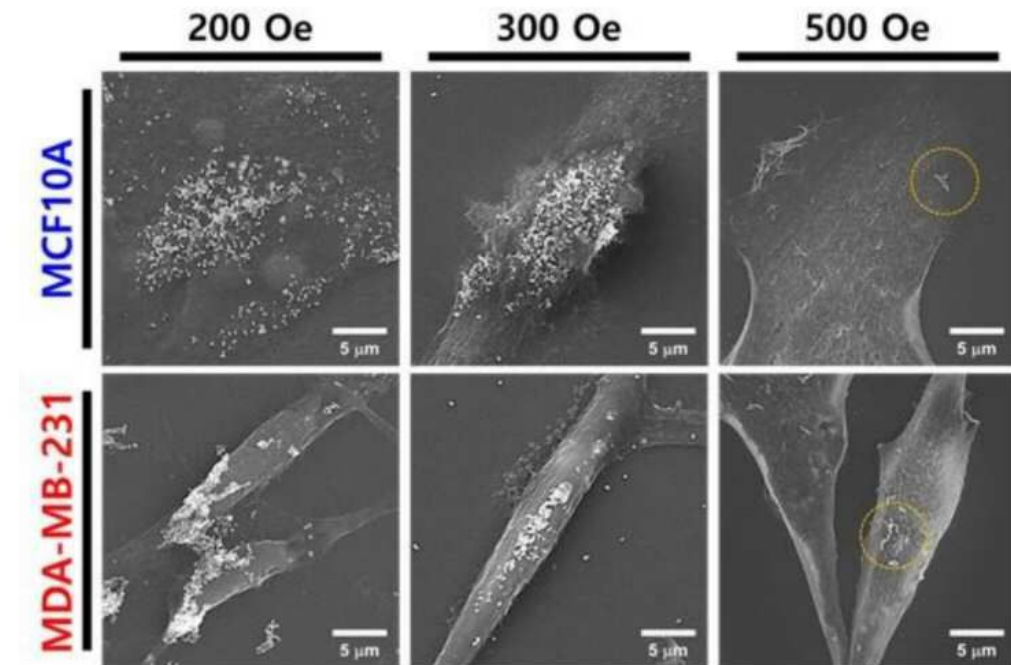
도면2



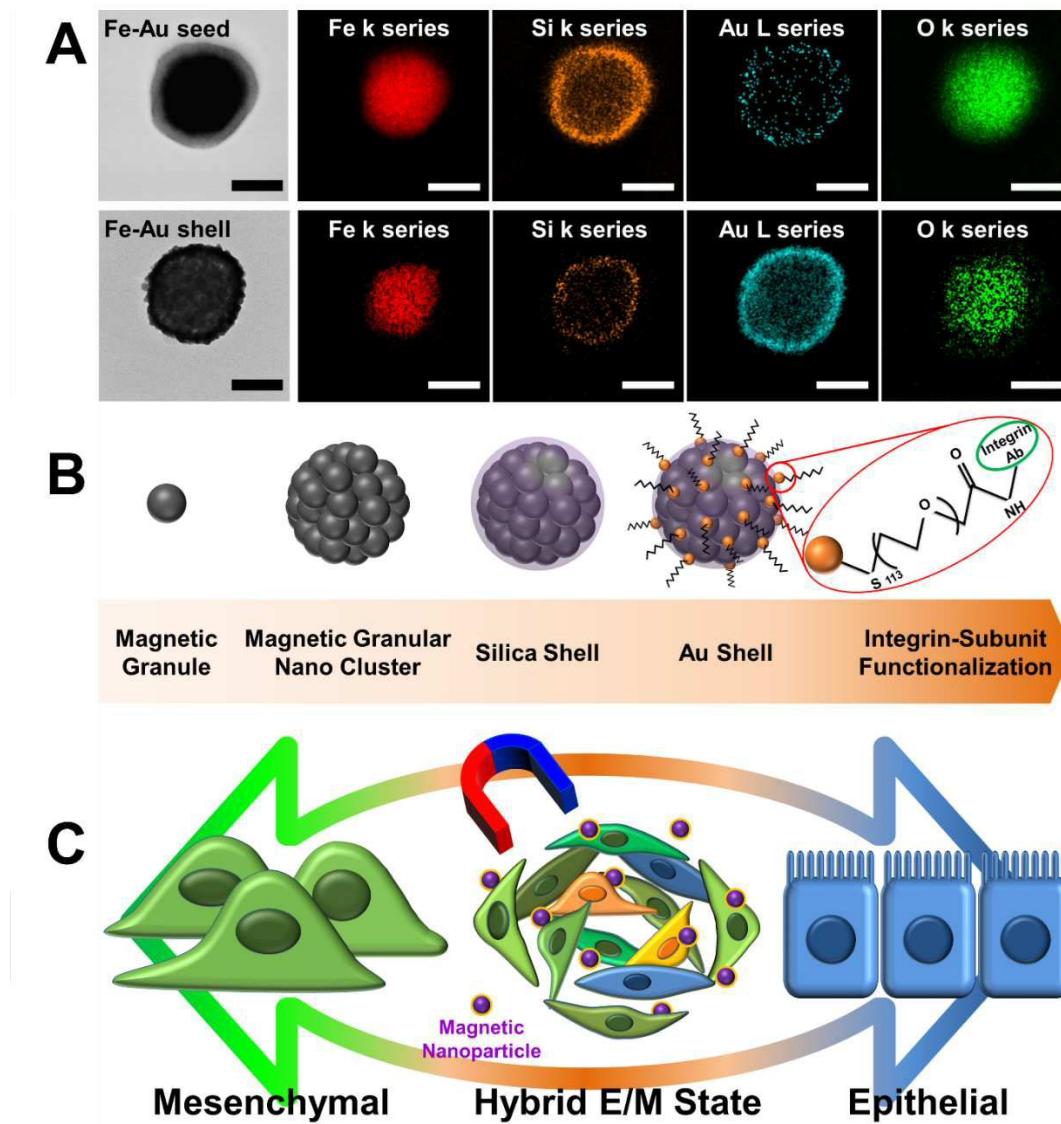
도면3



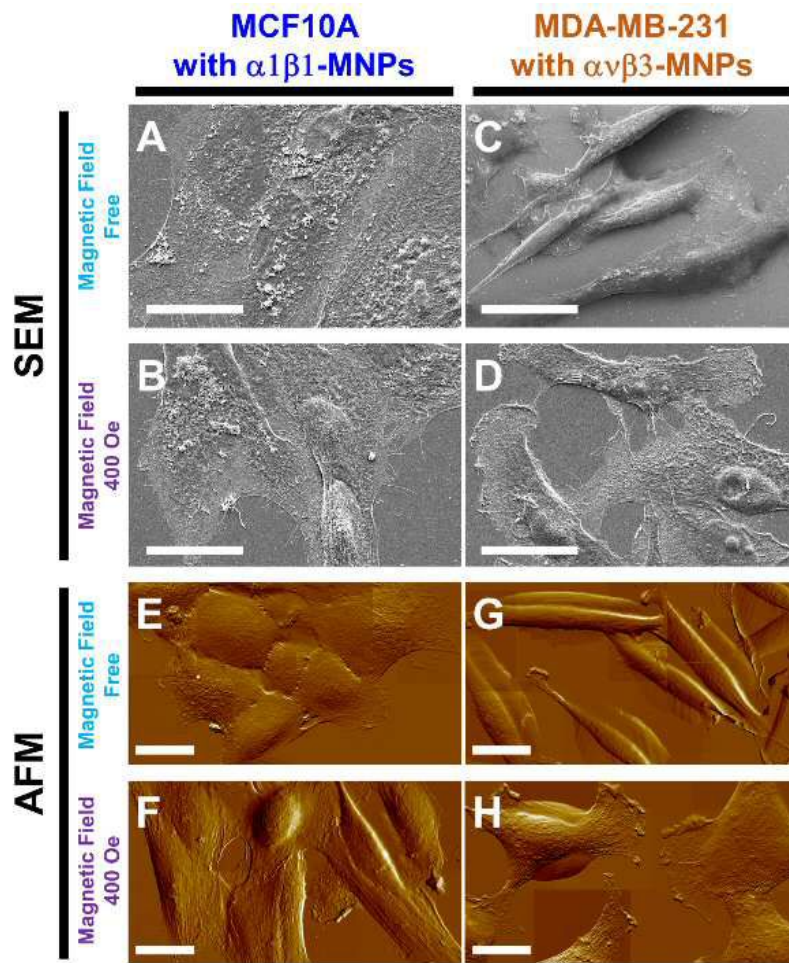
도면4



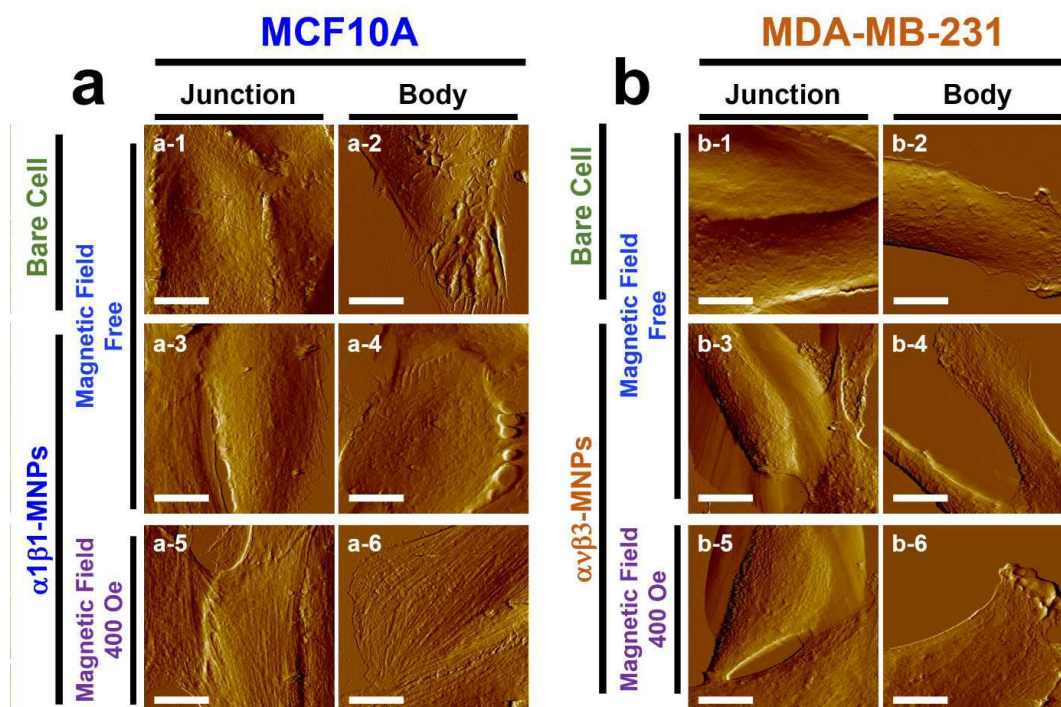
도면5



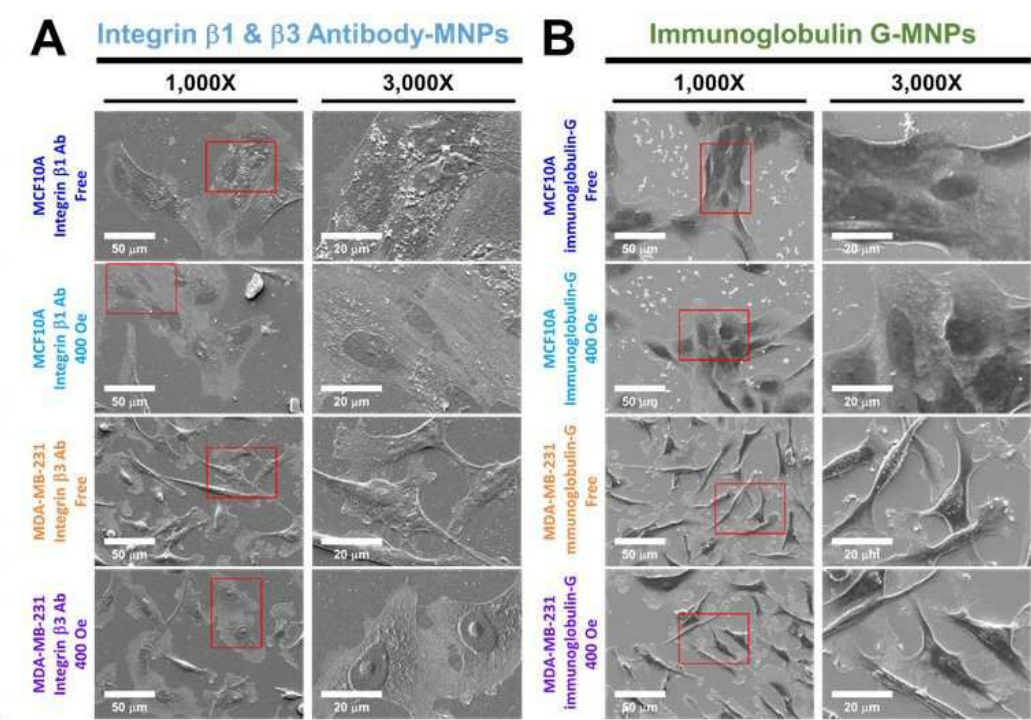
도면6



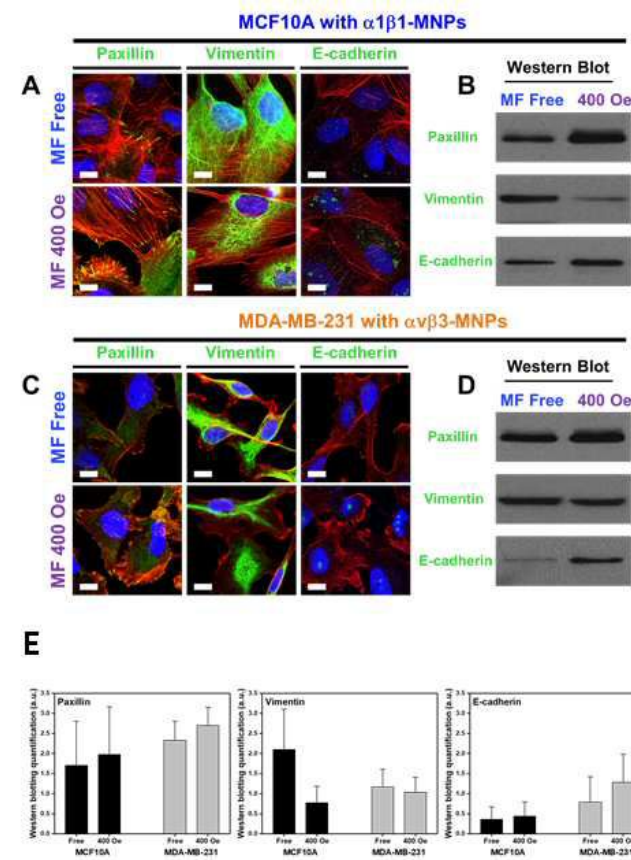
도면7



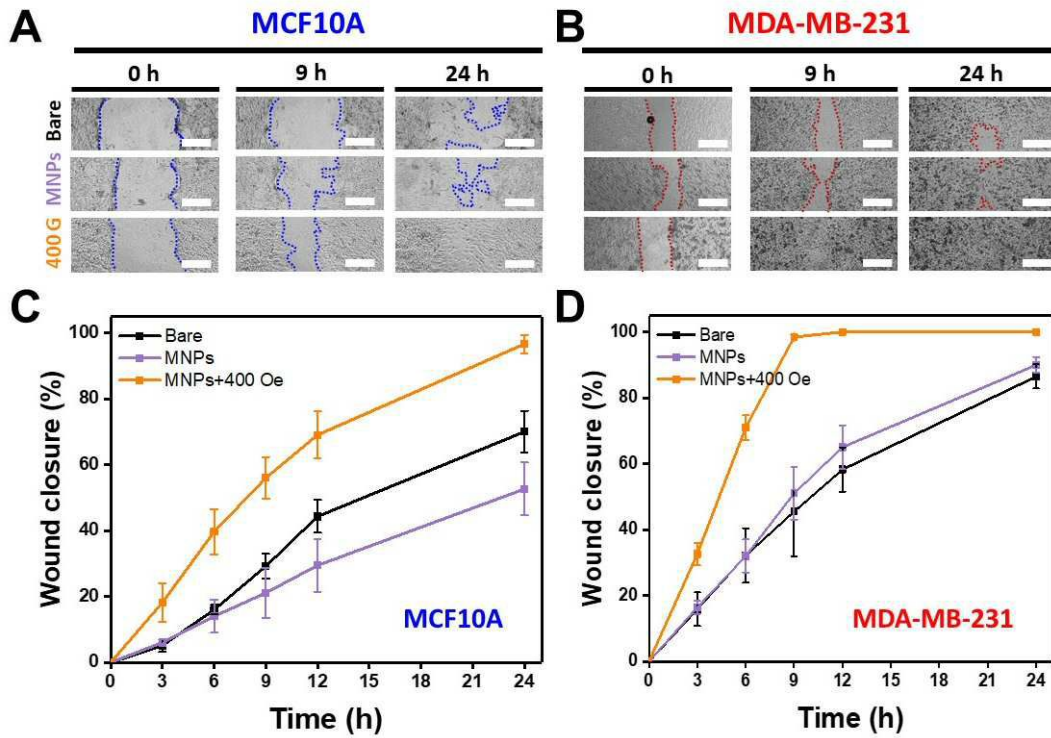
도면8



도면9



도면10



도면11

