



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0027895
(43) 공개일자 2020년03월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61B 5/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61B 5/0071 (2013.01)

A61B 5/7275 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-0108377

(22) 출원일자 2019년09월02일

심사청구일자 2019년09월02일

(30) 우선권주장

1020180106037 2018년09월05일 대한민국(KR)

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

한국과학기술원

대전광역시 유성구 대학로 291(구성동)

(72) 발명자

김현구

서울특별시 서초구 반포대로39길 63-8, A동 402호(반포동, 반포서래월드메르디앙라스칼라)

전옥화

서울특별시 구로구 구로동로 148 (구로동, 고려대부속구로병원) 신관6층 6277호 흉부외과 의국

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 다해

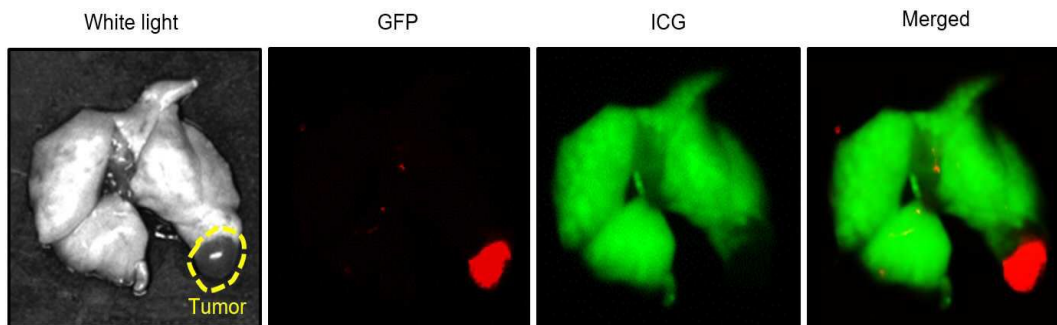
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 형광조영제를 유효성분으로 포함하는 폐 종양 병변 표지를 위한 흡입 투여용 약학적 조성물

(57) 요약

본 발명은 형광조영제 흡입을 통한 폐 종양 판단에 관한 정보를 제공하는 방법에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 소량의 인도시아닌그린을 흡입하는 방식으로, 기존의 정맥주사를 통하여 형광조영제가 몸 전체에 분포되는 문제점이 없으며, 흡입된 형광조영제와 정맥주입된 형광조영제의 암 탐색 효능을 비교했을 때, 형광조영제의 흡입을 통한 암 탐색 효능이 정맥주입에 비하여 현저하고 높다.

대표도 - 도2c



(72) 발명자

최병현

서울특별시 구로구 구로동로 148, 고려대학교 구로병원 신관 6277 (구로동)

노지윤

인천광역시 부평구 경원대로 1269, 104동 103호(산곡동, 현대1차아파트)

박지호

대전광역시 유성구 대학로 291, 한국과학기술원 K I빌딩 C517호 (구성동)

임지영

대전광역시 유성구 대학로 291, 한국과학기술원 K I빌딩 C502호 (구성동)

오찬희

대전광역시 유성구 대학로 291, 한국과학기술원 K I빌딩 C502호 (구성동)

정대호

대전광역시 유성구 대학로 291, 한국과학기술원 K I빌딩 C502호 (구성동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI17C0654

부처명 보건산업진흥원

연구관리전문기관 질병중심 중개 중점연구

연구사업명 질환극복기술개발

연구과제명 심부조직내 암 탐색이 가능한 형광/핵의학 복합내시경을 이용한 최소침습적 정밀 암 수술 기법 개발

기 여 율 1/2

주관기관 고려대학교

연구기간 2017.04.01 ~ 2019.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2018R1D1A1B07048721

부처명 한국연구재단

연구관리전문기관 이공분야기초연구사업

연구사업명 기본연구과제

연구과제명 흡입용 형광 조영제를 이용한 정밀 폐암 수술 기법 개발

기 여 율 1/2

주관기관 고려대학교

연구기간 2018.06.01 ~ 2023.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

형광 조영제를 유효성분으로 포함하는, 폐 종양 병변 표지를 위한 흡입 투여용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 형광 조영제는 인도시아닌 그린(Indocyanine green: ICG), Alexa Fluor 647, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 780, cy3.5, cy5, cy5.5, cy7, Cypate, ITCC, NIR820, NIR2, IRDye78, IRDye80, IRDye82, IRDye680, IRDye700, IRDye800, DiD, DiR, Cresy Violet, Nile Blue, Oxazine 750 및 Rhodamine800, Texas Red 및 이들의 혼합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 폐 종양 병변 표지를 위한 흡입 투여용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 형광 조영제를 6 내지 30 mg 포함하고 1일 1회 투여에 효과적인, 폐 종양 병변 표지를 위한 흡입 투여용 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 형광 조영제를 15 mg 포함하고 1일 1회 투여에 효과적인, 폐 종양 병변 표지를 위한 흡입 투여용 약학적 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 폐 종양 병변 표지용 키트.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 키트는 폐 종양 절제 수술 중에 실시간으로 종양 조직의 크기 및 위치를 확인하기 위해 사용되는 것을 특징으로 하는, 키트.

청구항 7

형광 조영제를 유효성분으로 포함하는, 폐 종양 병변 표지를 위한 흡입제.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 형광 조영제는 인도시아닌 그린(Indocyanine green: ICG), Alexa Fluor 647, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 780, cy3.5, cy5, cy5.5, cy7, Cypate, ITCC, NIR820, NIR2, IRDye78, IRDye80, IRDye82, IRDye680, IRDye700, IRDye800, DiD, DiR, Cresy Violet, Nile Blue, Oxazine 750 및 Rhodamine800, Texas Red 및 이들의 혼합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 폐 종양 병변 표지를 위한 흡입제.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 흡입제는 형광 조영제를 6 내지 30 mg 포함하는 것을 특징으로 하는, 흡입제.

청구항 10

하기 단계를 포함하는 폐 종양 병변 부위 판별을 위한 정보제공방법:

- (a) 개체의 호흡을 통해 형광 조영제를 폐에 주입하는 단계;
- (b) 상기 개체의 폐를 형광 영상 시스템을 이용하여 상기 조영제가 발하는 형광 신호를 검출하는 단계; 및
- (c) 상기 형광 신호가 검출되지 않는 영역을 종양 조직으로 판정하는 단계.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 형광 조영제는 인도시아닌 그린(Indocyanine green: ICG), Alexa Fluor 647, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 780, cy3.5, cy5, cy5.5, cy7, Cypate, ITCC, NIR820, NIR2, IRDye78, IRDye80, IRDye82, IRDye680, IRDye700, IRDye800, DiD, DiR, Cresy Violet, Nile Blue, Oxazine 750 및 Rhodamine800, Texas Red 및 이들의 혼합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 폐 종양 병변 부위 판별을 위한 정보제공방법.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 (a) 단계에서 형광 조영제는 개체의 단위 체중(1kg)당 0.1 내지 1 mg 주입되는 것을 특징으로 하는, 폐 종양 병변 부위 판별을 위한 정보제공방법.

청구항 13

제10항에 있어서,

상기 (a) 단계에서 주입은 네블라이저를 이용하여 주입하는 것을 특징으로 하는, 폐 종양 병변 부위 판별을 위한 정보제공방법.

청구항 14

하기 단계를 포함하는 폐 절제 수술 중 병변의 경계면을 확인하는 방법:

- (1) 형광 조영제를 인간을 제외한 개체의 호흡을 통해 투여하는 단계;
- (2) 상기 개체의 개흉 후 형광 영상 시스템을 이용하여 상기 조영제가 발하는 형광 신호를 검출하는 단계; 및
- (3) 상기 형광 신호가 검출되지 않는 영역은 병변이고, 상기 형광 신호가 검출되는 영역은 정상조직인 것으로 판정하는 단계.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 형광 조영제는 인도시아닌 그린(Indocyanine green: ICG), Alexa Fluor 647, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 780, cy3.5, cy5, cy5.5, cy7, Cypate, ITCC, NIR820, NIR2, IRDye78, IRDye80, IRDye82, IRDye680, IRDye700, IRDye800, DiD, DiR, Cresy Violet, Nile Blue, Oxazine 750 및 Rhodamine800, Texas Red 및 이들의 혼합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 폐 절제 수술 중 병변의 경계면을 확인하는 방법.

청구항 16

제14항에 있어서,

상기 (1) 단계에서 형광 조영제는 개체의 단위 체중(1kg)당 0.1 내지 1 mg 투여하는 것을 특징으로 하는, 폐 절제 수술 중 병변의 경계면을 확인하는 방법.

청구항 17

제14항에 있어서,

상기 (1) 단계의 투여는 네블라이저를 이용하여 투여하는 것을 특징으로 하는, 폐 절제 수술 중 병변의 경계면을 확인하는 방법.

청구항 18

제14항에 있어서,

상기 병변은 폐포 구조가 파괴된 것을 특징으로 하는, 폐 절제 수술 중 병변의 경계면을 확인하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 형광조영제를 유효성분으로 포함하는 폐 종양 병변 표지를 위한 흡입 투여용 약학적 조성물 등에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 우리나라 사람들에게 가장 많이 발생하는 암은 위암, 대장암, 폐암, 갑상선암, 간암이다. 국가 암 발생 통계를 기초로 살펴보면 평생 암에 걸릴 확률이 남성은 3명 중 1명, 여성은 4명 중 1명으로 분석되는 등 암 발생에 대한 위험이 높아지고 있다. 특히 폐암의 경우, 산업화에 따른 대기오염의 악화와 함께 흡연자의 증가, 특히 청소년과 여성들의 흡연 증가 추세로 볼 때 폐암 환자의 수는 증가할 것으로 예상된다. 미국의 경우도 암 관련 사망 가운데 남녀 모두에게 폐암은 가장 흔한 원인이다.

[0004] 주요 형태의 폐암은 소세포 폐암(SCLC) 및 비소세포 폐암(NSCLC)이다. 소세포 폐암(SCLC)은 신속히 성장하는 유형의 폐암이다. 이는 비소세포 폐암보다 훨씬 더 빨리 퍼진다. 소세포 암종(연막 세포 암), 혼합 소세포/대세포

암종 및 복합 소세포 암종의 3가지 상이한 유형의 소세포 폐암이 존재한다. 대부분의 소세포 폐암은 연맥 세포 유형이다. 비소세포 폐암(NSCLC)은 가장 흔한 유형의 폐암이다. 선암, 편평상피세포암(squamous cell carcinoma) 및 대세포암(large-cell carcinoma)의 3가지 형태의 NSCLC가 존재한다. 선암은 폐 말초 부위에서 주로 발생하고, 여성 또는 비흡연자에게서도 잘 발생하며, 크기가 작아도 전이가 되어 있는 경우가 많고, 최근 그의 발생 빈도가 증가하는 추세에 있다. 다음으로, 편평상피세포암은 주로 폐 중심부에서 발견되고, 주로 기관지 내강으로 자라 기관지를 막는 증상을 나타내며, 남성에게 흔하고, 흡연과 밀접하게 관련된 것으로 알려져 있다. 대세포암은 폐 표면 근처(폐 말초)에서 주로 발생하고, 절반 가량은 큰 기관지에서 발생하며, 전체 폐암의 4 내지 10% 정도를 차지하고, 세포 크기가 대체적으로 크며, 그 중 일부는 빠르게 증식 및 전이되는 경향이 있어 다른 비소세포 폐암에 비해 예후가 나쁜 것으로 알려져 있다. 폐암에 대한 통상의 치료는 완화 처치, 수술, 화학 요법 및 방사선요법을 포함한다.

[0005] 폐암이 조기에 진단될 경우에는 약물치료 및 방사선 치료 등을 통해 회복될 수 있으나, 일정 수준으로 병증이 악화된 경우에는 수술적 절제가 필수적이고 약물치료 및 방사선 치료를 병행하게 된다. 그런데 폐암의 조기 진단율은 약 20%로 높지 아니하다. 이에, 폐암 환자의 대부분은 폐 절제술을 시행하게 되는데 폐는 그 구조적 특성에 의해 원활하게 기능하는 특징을 가지고 있어 폐 절제술 시행 시 병변의 위치 및 크기를 정확하게 파악하여 종양과 적절한 거리를 절단하되 최소 절제하는 것이 유리하다.

[0006] 한편, 영상화 기술 중 근적외선 형광 영상기술은 비침습성 질병 진단과 모니터링 기술로서 주목받고 있는데, 근적외선 영역인 700~900nm 영역이 백그라운드 자가 형광이 낮고 광산란이 적으며 깊은 조직까지 영상이 가능한 장점이 있어 이상적인 생체 영상을 수행할 수 있다. 형광 영상을 위한 형광 염료 중 인도시아닌 그린(indocyanine green: ICG)은 임상을 통해 사용이 승인된 근적외선 형광 염료로서 주로 간 혈관 및 심장 염색에 사용되고 있으며 다양한 진단 및 영상기술에 응용되고 있다.

[0007] 1999년 인도시아닌 그린을 수술 전 정맥 주입하면 수술 중 근적외선 형광 영상하에서 간암의 경계면 탐색이 가능함이 알려진 이래로, 최근 실제 임상에서 사용 가능한 passive targeting 형광조영제를 이용한 암 탐색법이 활발하게 이용되고 있다.

[0008] 그러나, 정맥 주사를 통한 형광조영제의 주입은 암 탐색을 위하여 최소 5mg/kg의 고농도 형광조영제가 주입되어야 하며, 대장암, 유방암, 피부암, 폐암 등 여러 암종에서 일률적으로 적용되고 있지만, 폐암의 경우 그 탐색율이 매우 낮은 문제가 있다. 구체적으로, 폐암은 암 조직이 폐 표면으로부터 1 cm 이상의 깊이에 주로 위치하고 있어 암 탐색율이 10% 밖에 되지 않음을 보고되었다.

[0009] 이에, 본 발명자들은 폐 절제 수술 중 암 조직의 경계면을 보다 정확하게 탐색할 수 있는 방법에 대해 예의 연구하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0010] (비특허문헌 0001) Int J Cancer. 2016 Aug 1;139(3):673-82. doi: 10.1002/ijc.30102.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 개체의 호흡을 통해 형광조영제를 투여하여 폐 절제 수술 중 병변의 크기 및/또는 위치 정보를 보다 정확하고 효과적으로 제공하기 위한 것으로서, 형광조영제를 유효성분으로 포함하는 폐 종양 병변 표지를 위한 흡입 투여용 약학적 조성물, 폐 종양 병변 표지용 키트 및 흡입제, 폐 종양 병변 부위 판별을 위한 정보제공방법, 및 폐 절제 수술 중 병변의 경계면을 확인하는 방법을 제공하는 것이다.

[0012] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 형광조영제를 유효성분으로 포함하는 폐암 병변 표지를 위한 흡입 투

여용 약학적 조성물을 제공한다.

- [0015] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 약학적 조성물은 형광조영제를 6 내지 30 mg 포함하고 1일 1회 투여에 효과적인 것일 수 있으며, 바람직하게는 15 mg 포함하고 1일 1회 투여하는 것에 보다 효과적일 수 있다.
- [0016] 또한, 본 발명은 상기 약학적 조성물을 포함하는 폐 종양 병변 표지용 키트를 제공한다.
- [0017] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 키트는 폐 종양 절제 수술 중에 실시간으로 암 조직의 크기 및 위치를 확인하기 위해 사용되는 것일 수 있다.
- [0018] 또한, 본 발명은 형광조영제를 유효성분으로 포함하는 폐 종양 병변 표지를 위한 흡입제를 제공한다.
- [0019] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 흡입제는 형광조영제를 6 내지 30 mg 포함할 수 있고, 바람직하게는 15 mg 포함할 수 있다.
- [0020] 또한, 본 발명은 (a) 개체의 호흡을 통해 형광조영제를 폐에 주입하는 단계; (b) 상기 개체의 폐를 형광 영상 시스템을 이용하여 발하는 형광 신호를 검출하는 단계; 및 (c) 상기 형광 신호가 검출되지 않는 영역을 암 조직으로 판정하는 단계;를 포함하는 폐 종양 병변의 위치 및/또는 크기 정보를 제공하는 방법을 제공한다.
- [0021] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 (a) 단계에서 형광조영제는 개체의 단위 체중(1kg)당 0.1 내지 0.5 mg 주입되는 것일 수 있으며, 바람직하게는 개체의 단위 체중 당 0.25mg 주입되는 것일 수 있다.
- [0022] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 (a) 단계에서 주입은 네블라이저를 이용하여 주입하는 것일 수 있다.
- [0023] 또한, 본 발명은 (1) 형광조영제를 개체의 기도를 통해 투여하는 단계; (2) 상기 개체의 개흉 후 형광 영상 시스템을 이용하여 형광 신호를 검출하는 단계; 및 (3) 상기 형광 신호가 검출되지 않는 영역은 병변이고, 상기 형광 신호가 검출되는 영역은 정상조직인 것으로 판정하는 단계;를 포함하는 폐 절제 수술 중 병변의 경계면을 확인하는 방법을 제공한다.
- [0024] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 개체는 인간 및/또는 인간을 제외한 포유류일 수 있다.
- [0025] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 병변은 폐포의 구조가 파괴된 것일 수 있으며, 바람직하게는 암세포의 증식에 의해 폐포 구조가 파괴된 것일 수 있다.
- [0026] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 (1) 단계에서 형광조영제는 개체의 단위 체중(1kg) 당 0.1 내지 0.5 mg 투여하는 것일 수 있으며, 바람직하게는 개체의 단위 체중 당 0.25mg 투여하는 것일 수 있다.
- [0027] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 (1) 단계의 투여는 네블라이저를 이용하여 투여하는 것일 수 있다.
- [0028] 한편, 본 발명에서 상기 형광조영제는 인도시아닌 그린(Indocyanine green: ICG), Alexa Fluor 647, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 780, cy3.5, cy5, cy5.5, cy7, Cypate, ITCC, NIR820, NIR2, IRDye78, IRDye80, IRDye82, IRDye680, IRDye700, IRDye800, DiD, DiR, Cresy Violet, Nile Blue, Oxazine 750 및 Rhodamine800, Texas Red 및 이들의 혼합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 것일 수 있다.
- [0029] 또한, 본 발명은 폐 종양의 병변 표지를 위한 흡입 투여용 약학적 조성물 또는 흡입제 제조를 위한 형광조영제의 용도를 제공한다.
- [0030] 또한, 본 발명은 상기 (1) 내지 (3) 단계를 포함하는 폐 종양 진단 방법을 제공한다.
- [0031] 또한, 본 발명은 상기 (1) 내지 (3) 단계를 포함하는 폐 절제 수술 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0033] 본 발명의 폐 종양에 있어서 종양 조직의 위치 및/또는 크기 정보를 정확하고 효과적으로 제공할 수 있는 형광조영제의 투여방법 및 투여용량에 관한 것으로서, 기존의 정맥주사에 의한 투여 시 몸 전체에 형광조영제가 분포하는 문제가 있었으나, 본 발명에 의하면 그러한 문제가 발생하지 아니하며, 정맥투여 보다 적은 용량으로 신속하고 정확하게 암 병변의 위치, 크기 등을 실시간으로 검출할 수 있는바, 폐 종양 병변의 외과적 수술의 성공율을 향상시킬 뿐만 아니라, 정상조직의 과다한 손실을 방지할 수 있으므로, 효과적인 항암치료에 널리 활용될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0035] 도 1a는 기도를 통해 투여한 ICG의 체내 분포를 확인하기 위한 실험의 모식도 이고, 도 1b는 기도를 통해 투여한 ICG가 특히 폐에 위치하고 투여 후 10분 이내에 형광을 발하며 투여 1 시간 후에 최대로 발광하며 24시간 동안 형광이 유지됨을 확인한 도면이다.
- 도 2a는 폐 종양을 유도한 토끼 모델의 제작방법과 ICG의 기도 투여에 의해 폐 종양 병변의 위치 및 크기 정보를 획득하는 과정을 시계열적으로 도시한 도면이고, 도 2b는 ICG를 흡입한 상기 토끼의 폐에서 획득한 형광 이미지와 H&E 염색 이미지이고, 도 2c는 GFP로 표지한 폐암세포와 호흡을 통해 투여된 ICG의 분포를 비교확인한 도면이다.
- 도 3은 폐 종양 유도 토끼 모델에서 기도를 통해 투여한 ICG의 농도에 따른 염색 정도와 암 탐색율을 비교 확인한 도면이다.
- 도 4a 및 도 4b는 폐 종양 유도 토끼 모델에서 ICG의 투여 경로(기도 투여 및 정맥 투여)에 따른 염색 정도와 암 탐색율을 비교 확인한 도면이다.
- 도 5는 사람의 폐에서 ICG를 기관지 투여한 후 병변의 경계를 확인하고, 암 조직의 경계가 병리학적 결과와 일치함을 확인한 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0036] 본 발명자들은 폐 종양에 있어서 형광조영제의 정맥 투여를 통한 종양 탐색에 있어서 낮은 탐색율을 타개하기 위하여 예의 연구한 결과 본 발명을 완성하였다.
- [0037] 본 발명자들은 폐의 구조적 특징을 고려하였을 때 흡입된 나노사이즈의 물질들은 정상 폐포에는 도달할 수 있지만 폐포 구조가 파괴되어 정상적인 환기를 못하는 기흉이나 폐 종양에는 도달하지 못할 것으로 예상하고, 일반적으로 정맥 투여하는 형광 조영제를 기도를 통해 폐포 내부에 유입되도록 투여하여 암 탐색의 효율 등을 실험적으로 확인한 결과, 형광 조영제인 인도시아닌 그린(Indocyanin green: ICG)을 기도를 통해 투여하는 경우 정맥 투여 보다 적은 용량의 형광조영제 만으로도 신속하고 정확하게 병변의 위치 및 크기 정보를 파악할 수 있고, 병변 부위와 정상 부위를 명확하게 구분할 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.
- [0038] 형광조영제를 이용한 영상 유도 암탐색 수술에 관한 연구는 많이 이루어지고 있으나, 형광조영제의 정맥 투여의 경우 형광조영제가 몸 전체에 분포되는 문제점이 있으며, EPR효과(Enhanced permeability and retention 효과)에 의하여 암 탐색율이 비교적 낮은 문제점이 있다. 또한, 일반적으로 5mg/kg 이상의 고농도 형광조영제 투여가 요구되며, 종양의 크기에 비례하여 투여 용량을 늘려야 한다는 문제점이 있다.
- [0039] 이에, 본 발명의 구체적인 실시예에서는, 정상 마우스에 호흡을 통해 ICG를 기도투여한 후 ICG의 분포를 확인하고 시간의 경과에 따른 형광의 강도 변화를 관찰한 결과, 기도를 통해 투여된 ICG는 압도적으로 많은 양이 폐에 존재하였으며, 뇌, 비장, 신장 등의 기관에는 영향이 거의 없거나 적음을 알 수 있었다. 또한, ICG의 기도 투여는 투여 후 신속하게 폐에 분포하여 형광을 나타내었으며, 투여 1시간 후에 가장 강한 형광을 발하고 그 세기는 점차 감소하지만 투여 24시간 후까지 지속됨을 확인하였다(실시예 1 참조). 상기 결과로부터, 특히 폐 종양에 있어서 본 발명에 따른 ICG의 기도 투여가 종래의 정맥 투여보다 빠르게 폐의 형광이미지를 획득할 수 있고, 이때 형광 이미지 획득을 위하여 다른 기관에 미치는 영향이 없거나 매우 적음을 알 수 있다.
- [0040] 또한, 본 발명의 구체적인 실시예에서는, ICG의 기도 투여가 실제로 암 탐색에 적합한지 확인하기 위하여 폐 종양 유도 동물 모델에서 ICG 기도 투여 후 획득한 형광 이미지와 H&E 염색 이미지를 비교확인한 결과 ICG 기도 투여 후 획득한 형광 이미지가 나타내는 암 조직의 경계면과 조직학적인 종양의 경계면이 일치함을 확인하여 ICG 기도 투여가 암 탐색에 적합함을 알 수 있었다(실시예 2).
- [0041] 이에, 본 발명은 형광조영제를 유효성분으로 포함하는 폐 종양 병변 표지를 위한 흡입 투여용 약학적 조성물과 상기 약학적 조성물을 포함하는 키트 및 흡입제를 제공할 수 있다.
- [0042] 나아가, 본 발명은 ICG를 개체의 기도를 통해 투여하는 단계를 포함하여 수술 전 또는 수술 중 폐 종양의 존부 또는 폐 종양 병변 부위의 판별을 위한 정보제공방법을 제공할 수 있으며, 폐 절제 수술 중 병변의 크기, 위치, 및 그 경계면에 관한 정보제공방법을 제공할 수 있다. 이때, 상기 방법에 의해 제공되는 정보는 진단을 위한 정보일 수 있으며, 이 경우 폐 종양 진단 또는 폐 종양에서 종양의 실태를 진단하기 위한 방법으로서 제공될 수

있다.

- [0043] 또한, 본 발명의 구체적인 실시예에서는, ICG의 기도 투여가 정맥 투여보다 낮은 농도에서 효과를 나타낼 수 있는지 확인하기 위하여, 폐 종양 유도 동물 모델에 농도를 달리하여 ICG를 기도로 투여한 후 형광 이미지를 획득하고 그 농도에 따른 암 탐색율을 확인한 결과, 정맥 투여가 최소 5mg/kg의 ICG 투여를 요구하는 것과는 달리, 기도를 통해 투여하는 경우 0.1 mg/kg의 투여에도 암 조직과 정상 조직의 경계면을 구분하는데 충분함을 알 수 있었다.
- [0044] 이에, 본 발명에 따른 형광조영제 기도 투여시 인도시아닌 그린의 투여용량은 개체의 단위 체중 1kg 당 0.1 내지 1 mg일 수 있으며, 바람직하게는 0.1 내지 0.5 mg, 더욱 바람직하게는 0.25 mg일 수 있다. 투여되는 형광조영제의 용량이 0.1 mg/kg 보다 낮을 경우 암 경계면을 정확하게 구분하기 어려우며, 1 mg/kg 보다 많이 투여할 경우 알러지 반응이 발생할 확률이 높아지는 단점이 있다.
- [0045] 또한, 본 발명의 구체적인 실시예에서는, ICG의 기도 투여가 정맥투여보다 낮은 농도에서 보다 효과적으로 암 조직의 경계 판별을 위한 정보를 제공하는지 확인하기 위하여, 폐 종양 유도 동물 모델에서 기도를 통해 ICG를 투여한 군과 정맥 주사를 통해 ICG를 투여한 군의 영상 이미지를 획득하고 암 탐색율을 비교확인한 결과, 정맥 투여 시 ICG의 투여 용량이 기도 투여 시보다 약 20배 많음에도 불구하고 기도 투여 시 암 탐색율(TMDE)이 약 2.5배 이상 우수함을 확인할 수 있었다(실시예 4 참조).
- [0046] 또한, 본 발명의 구체적인 실시예에서는, 실제 폐 종양 환자의 폐에서 ICG를 기관지를 통해 투여한 결과 병변의 위치 및 크기를 정확하게 파악할 수 있으며, 수술 중 형광영상 시스템 유도 하에 정확한 폐 절제 수술에 본 발명이 적합함을 확인하였다(실시예 5 참조).
- [0047] 본 발명에서 용어 “진단”은 형광조영제를 기도로 투여하여 구조가 파괴되거나 변형된 폐포의 존부(存否) 판단과 폐에서 손상된 조직과 정상 조직의 경계면을 판별하거나, 상기 손상된 조직의 크기 및/또는 위치 정보를 확인하여 폐 질환의 실태를 파악하는 모든 행위를 포함하는 의미이다. 상기 손상된 조직이란 폐포 구조가 파괴된 것으로서 이는 이물질, 비정상적 증식에 의한 세포 덩어리 등에 의하여 폐포에 공기 흐름이 차단된 것일 수 있고, 기흉에 의한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0048] 본 발명에서 용어, “약학적 조성물”은 질병의 진단을 목적으로 제조된 것을 의미하며, 각각 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있으나, 바람직하게는 호흡가능한 형태로 제형화하여 사용될 수 있으나, 본 발명의 조성물이 기도를 통과하여 폐포로 도달할 수 있는 제형이라면 제한되지 아니한다. 이에, 본 발명에서 “호흡 투여”는 코 또는 입으로 개체의 호흡에 따라 약물이 투여되는 것을 의미하고, 호흡 투여된 약물은 기도를 통하여 폐포로 전달되는바, 본 명세서에서 기도 투여는 호흡 투여와 혼용될 수 있다.
- [0049] 또한, 각각의 제형에 따라 약학적으로 허용가능한 담체, 예컨대 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제, 기제, 부형제, 윤활제 등 당업계에 공지된 담체를 추가로 포함하여 제조할 수 있다.
- [0050] 한편, 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여할 수 있다. 본 발명의 용어 “약학적으로 유효한 양”은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 건강상태, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0051] 따라서, 본 발명의 약학적 조성물을 개체에 투여하여 암을 진단할 수 있으며, 상기 종양 특히 폐 종양을 의미한다.
- [0052] 본 발명에서 용어, “개체”는 쥐, 가축, 인간 등 포유류일 수 있으며, 바람직하게는 인간일 수 있다.
- [0053] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에 투여를 위한 다양한 형태로 제형화될 수 있으며, 이때 제형화는 에어로졸화를 포함한다.
- [0054] 본 발명의 약학적 조성물이 에어로졸 제제로 제공되는 경우 수성 조성물, 건조 분말 조성물, 및 추진제-기반 조성물을 포함하는 의미이고, 본 발명은 상기 약학적 조성물을 포함하여 폐 종양 병변 표지를 위한 키트로 제공될 수 있다.
- [0055] 본 발명에서 “흡입제”는 흡입 가능한 형태로 제형화된 것을 의미하고, 수성 용액, 건조 분말, 또는 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 추진제 및 담체의 혼합물을 포함할 수 있다.

- [0056] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 방부제, 수화제, 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 또는 완충제와 같은 보조제와 기타 치료적으로 유용한 물질을 추가로 포함할 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 제제화 될 수 있다.
- [0057] 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여 경로로는 기도(氣道)를 통해 사람과 동물에 투여될 수 있으며, 본 발명에서 약학적 조성물은 흡입 투여용이며, 기도 투여는 코 또는 입으로 투여되는 것을 포함하고 이때 투여를 돕기 위하여 네블라이저가 이용될 수 있다.
- [0058] 본 발명의 약학적 조성물에 있어서, 본 발명에 따른 형광 조영제의 총 유효량은 단일 투여량(single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으나, 이에 제한되지 아니한다. 본 발명의 약학적 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있으나, 통상적으로 성인을 기준으로 1회 투여시 6 내지 60 mg의 유효용량으로 하루에 수 차례 반복 투여될 수 있다. 그러나 상기 인도시아닌 그린의 농도는 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 질환의 중증도, 식이 및 배설을 등 다양한 요인들을 고려하여 환자에 대한 유효 투여량이 결정될 수 있으며, 바람직하게는 환자의 단위 체중 1kg 당 0.1 내지 1 mg, 더욱 바람직하게는 0.1 내지 0.5 mg 투여할 수 있다.
- [0059] 본 발명에서 “형광 조영제”란 살아있는 세포나 조직을 형광을 발하여 염색할 수 있는 물질을 의미하고, 본 발명의 형광 조영제는 근적외선을 말하는 것일 수 있다. 상기 근적외선은 적외선 영역의 전자파 중 파장이 짧은 영역을 의미하며, 일반적으로 약 1.5 ~ 0.75 μm 의 파장 영역을 나타내는 것일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 근적외선은 가시광선에 비해 피부 투과도가 좋아, 피하층의 혈관 또는 장기 등을 보기 위한 분자 영상 이미지를 획득하거나, 수술과정 중 민감한 부분에 대한 가이드(guiding)에 적용할 수 있는 장점을 가지고 있다.
- [0060] 본 발명에서 형광 조영제는 형광을 발하여 광학 이미지를 제공할 수 있는 것이라면 제한되지 아니하나, 그 비제한적인 예로는 인도시아닌 그린(indocyanine green; ICG), Alexa Fluor 647, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 780, cy3.5, cy5, cy5.5, cy7, Cypate, ITCC, NIR820, NIR2, IRDye78, IRDye80, IRDye82, IRDye680, IRDye700, IRDye800, DiD, DiR, Cresy Violet, Nile Blue, Oxazine 750 및 Rhodamine800, Texas Red 등이 있고, 바람직하게는 본 발명의 형광염료는 양친성을 띠는 근적외선 형광염료로서, 이에 한정되지 않으나 시아닌 계열인 cy3.5, cy5, cy5.5, cy7, ICG, Cypate, ITCC, NIR820, NIR2, IRDye78, IRDye80, IRDye82 와 Oxazine 계열의 Cresy Violet, Nile Blue, Oxazine 750, Rhodamines 계열의 Rhodamine800, Texas Red, 및 이들의 혼합물 또는 복합체로 이루어진 군에서 선택될 수 있고, 더욱 바람직하게는 인도시아닌 그린일 수 있다.
- [0061] 본 발명의 약학적 조성물은 유효성분으로서 인도시아닌 그린 이외에 공지된 형광조영제를 추가로 포함할 수 있고, 폐 질환의 병변에 대한 구체적인 정보 획득을 위한 공지된 다른 진단방법과 병용될 수 있다.
- [0062] 한편, 본 발명의 형광 조영제가 근적외선 형광 다이(near infra-red fluorescent dye)인 경우, 근적외선 파장영역에서 형광 특성을 나타낸다. 따라서 본 발명의 조성물은 당해 분야의 기술자에게 공지된 근적외선 형광 영상(NIR imaging)방법을 통해 이미지를 획득할 수 있으며, 이에 제한되지 않으나 예를 들어 근적외선 광학영상 측정장치(NIR optical imaging system)를 이용하여 영상을 촬영하고, 형광 분광계(Fluorescence Spectrophotometer)를 이용하여 근적외선 형광 스펙트럼을 측정할 수도 있다.
- [0064] 본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 이하 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.
- [0066] [실시예]
- [0067] 실시예 1. 정상 동물 모델에서 기도 투여에 따른 ICG의 분포 및 발광의 잔존 시간 확인
- [0068] 인도시아닌 그린(ICG)를 개체의 호흡을 통해 기도로 투여하는 경우, 폐 염색이 적절하게 되는지, 폐 이외의 기관에도 영향을 미치는지, 염색의 지속 시간 등을 확인하고자 하였다. 보다 구체적으로 정상 마우스에 도 1a에 도시된 바와 같이 SciReq Nebulizer를 이용하여 ICG 0.25 mg/mL을 10분 동안 호흡을 통해 투여하였다. 이어서, ICG(2.5 mg/kg)를 투여한 마우스를 10분, 1시간, 3시간, 6시간, 24시간 후에 희생시키고 뇌, 폐, 간, 신장, 및 비장을 적출하여 형광영상시스템을 이용하여 형광 이미지를 획득하고 형광신호강도를 측정하였다.
- [0069] 그 결과, 도 1b에 나타난 바와 같이, 호흡을 통해 기관지로 투여된 ICG는 특히 폐에 높은 농도로 존재하였으며,

신장 및 비장에는 거의 존재하지 아니하였다. 이에, 폐의 염색을 위하여 ICG의 기도 투여가 효과적일 수 있음을 알 수 있었다. 또한, 폐 염색에 있어서 호흡을 통한 ICG의 기도 투여는 투여 직후부터 매우 높은 형광 신호를 검출할 수 있었으며 투여 1시간 후에는 피크(peak)를 나타내었고, 투여 24 시간 후까지 형광 신호를 검출할 수 있었으나 ICG 투여 후 빠른 시간 내에 폐의 정상 조직과 비정상 조직의 경계면을 확인할 수 있고 그 경계면의 표지가 장시간 지속될 수 있음을 알 수 있었다.

[0071] 실시예 2. 폐 종양 유도 토끼 모델에서 ICG의 기도 투여를 통해 암 조직의 경계면 확인

상기 실시예 1에서 호흡을 이용하여 ICG를 기도를 통해 투여하는 경우 ICG는 다른 기관에는 거의 영향을 미치지 아니하고 폐 조직을 신속하게 염색하여 강한 형광을 발하는 것을 확인하였다. 이어서, 폐 종양 동물모델에서 ICG의 기도 투여가 정상 조직만을 염색하여 암 조직과 정상 조직을 구분하는데 이용할 수 있는지 확인하고자 하였다. 구체적으로, 폐에 VX2 암종을 이식하여 폐 종양을 유도한 토끼 모델을 도 2에 도시된 바와 같이 제작하고 네블라이저를 호흡기에 연결하여 ICG (0.75 mg/ml)를 4분동안 흡입시켰다. 1 시간이 경과한 후에 토끼의 가슴을 열고 폐를 NIR imaging system을 이용하여 형광 이미지를 획득하고 폐 종양 절제수술을 시행하였다. 절제된 폐 조직은 10 μ m 두께로 동결절편을 만들고 NIR 현미경을 이용하여 광학 이미지를 획득하였다. 이어서 폐 조직을 H&E 염색을 통해 조직학적으로 암 조직의 경계면을 확인하였다.

그 결과, 도 2b에 나타난 바와 같이, 호흡을 통해 투여된 ICG는 암 조직에는 분포되지 못하지만 정상 조직만을 염색하여 암 조직의 경계면을 뚜렷하게 표지할 수 있음을 확인하였다. ICG에 의해 negative contrast된 암 조직의 직경은 2mm 였으며, ICG에 의해 확인된 암 조직의 경계면은 조직학적인 암의 경계면과도 일치함을 알 수 있다.

암세포와 ICG 분포의 경계면을 더 정확히 보기 위하여 폐암 세포에 GFP를 표지하여 쥐 폐암 모델을 확립하고 호흡을 통해 투여된 ICG의 분포를 형광영상으로 확인한 결과, 도 2c에 나타난 바와 같이, 투여된 ICG는 GFP 신호가 있는 폐암 세포를 제외한 폐 전체에 분포되는 것을 확인하였다.

[0076] 실시예 3. 폐 종양 유도 토끼 모델에서 ICG의 투여 농도에 따른 암 탐색율 비교 확인

이어서, ICG의 정맥 투여와 비교하여 기도 내 투여시 보다 적은 양의 ICG 만으로도 원하는 효과를 달성할 수 있는지 확인하고자 하였다. 구체적으로, 상기 실시예 2에서 폐 종양 유도한 토끼 모델에 ICG의 농도를 달리하여 (0.1 mg/kg, 0.25 mg/kg, 0.5 mg/kg, 1 mg/kg) 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 ICG를 투여하고 폐의 형광 이미지를 획득하고 ICG 농도에 따른 TMDE(Tumor margin detection efficiency)를 비교하였다.

그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 폐 종양에 있어서 ICG의 기도 투여는 0.1 mg/kg, 0.25 mg/kg, 0.5 mg/kg, 및 1 mg/kg 모두에서 효과적으로 암 조직의 경계면을 확인할 수 있었으나 ICG의 농도 의존적으로 폐 종양의 탐색율이 증가하는 것을 확인하였다. 정확한 폐 종양 경계면 구분을 위하여 ICG를 0.25 mg/kg 이상 투여하여야 하는 것이 바람직함을 확인하였다.

[0080] 실시예 4. 폐 종양 유도 토끼 모델에서 ICG의 투여 경로에 따른 암 탐색율 비교 확인

이어서, ICG의 정맥 투여와 비교하여 기도 내 투여시 보다 효과적으로 폐 종양의 병변을 탐색할 수 있는지 확인하고자 하였다. 구체적으로 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 0.25mg/kg ICG를 호흡을 통해 투여한 폐 종양 유도 토끼 모델과, ICG 5 mg/kg을 정맥 투여한 폐 종양 유도 토끼 모델의 폐를 적출하여 투여 1시간 후, 3시간 후, 6시간 후, 24시간 후에 NIR imaging system을 이용하여 형광 이미지를 획득하고, TMDE를 정량화 하였다.

그 결과, 도 4a 및 도 4b에 나타난 바와 같이, ICG가 호흡으로 투여되는 양은 정맥 투여 시의 투여용량보다 20 배 적음에도 불구하고, 암 탐색율은 약 2.5배 이상 우수함을 확인할 수 있었다.

[0084] 실시예 5. 사람의 폐에서 ICG의 기관지 투여를 통해 병변 시각화

상기 실시예 2 내지 4에서 확인한 바와 같이 폐 종양의 경우 ICG의 기도 투여가 보다 적은 양의 ICG로도 현저하게 높은 암 탐색율을 나타냄을 알 수 있었다. 본 실시예에서는 실제 사람의 폐에서도 ICG의 기도 투여가 동일한 효과를 나타내어 폐 종양 절제 수술에 ICG의 기도 투여가 적합한지 확인하고자 하였다. 구체적으로, 고대구로병원에 내원하여 폐암 절제수술을 받은 6명의 폐 종양 환자의 절제된 폐의 폐엽기관지를 튜브로 연결하고 네블라이저를 이용하여 ICG 0.75mg/ml를 4분 동안 투여한 후 NIR imaging system을 이용하여 형광 이미지를 획득하였다. 구체적인 환자 case의 정보는 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

Patient	Sex	Age	pTNM Staging	Tumor Size	Pathology Type	Depth (cm)	Invasion to visceral pleura	Surgical Procedure	TMDE
Case 1	M	56	pT1bN2	2.2	Adenocarcinoma	1.0	N	RLL lobectomy	2.8
Case 2	M	64	pT2N0	2.4	Adenocarcinoma	1.0	Y	LUL lobectomy	2.7
Case 3	F	52	pT3N2	1.3	Adenocarcinoma	0.2	Y	RUL lobectomy	3.3
Case 4	F	65	pT2aN0	3.1	Adenocarcinoma	0.5	Y	RML lobectomy	2.6
Case 5	F	48	pT2aN0	2.1	Pleomorphic carcinoma	0	Y	RUL lobectomy	3.4
Case 6	F	64	pT2aN0	2.8	Adenocarcinoma	0.2	Y	RUL lobectomy	2.8

[0086]

[0087]

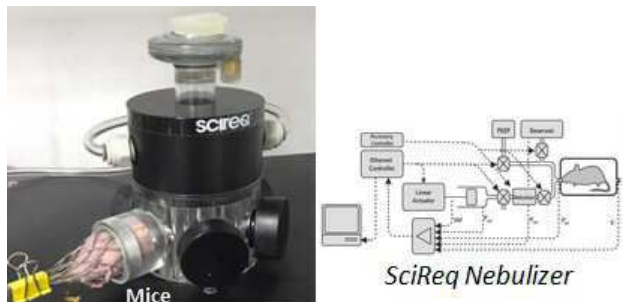
그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, 흡입된 ICG는 폐의 정상 조직에만 분포하여 암 조직과 정상 조직의 경계면을 뚜렷하게 나타내었다. 이는 각 환자의 병리학적 결과와 일치하는 결과였으며, 이로써 ICG의 기관 투여가 폐종양 절제 수술에 있어서 암 조직의 위치 및 크기 정보를 제공하는데 효과적임을 알 수 있다.

[0089]

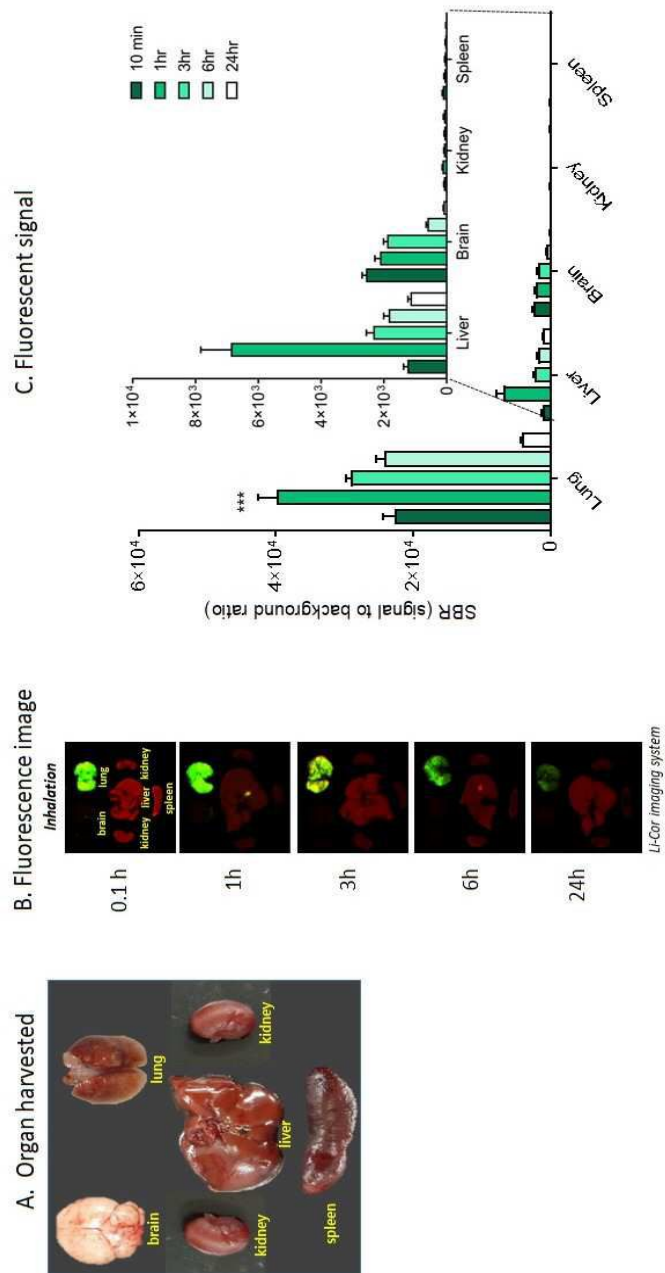
이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

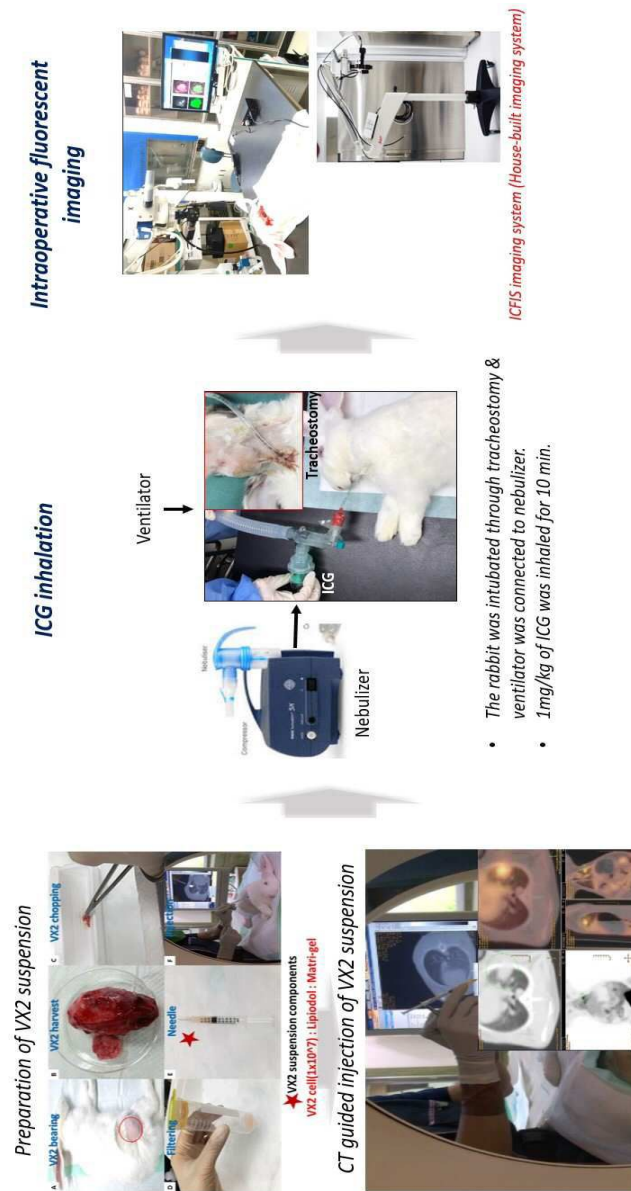
도면1a



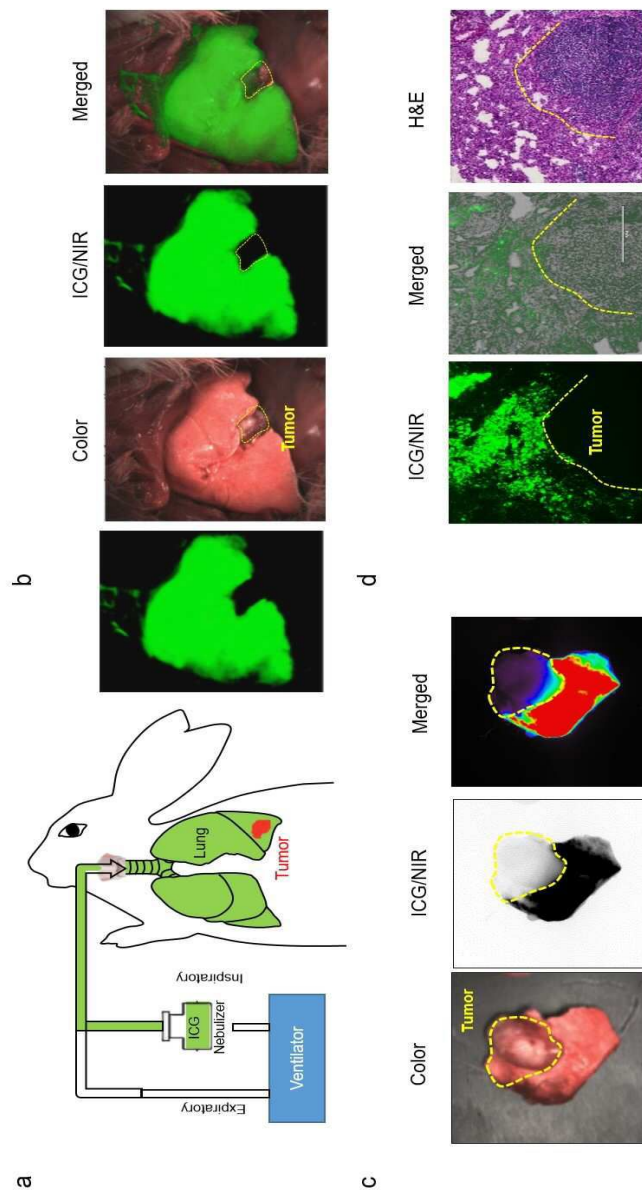
도면1b



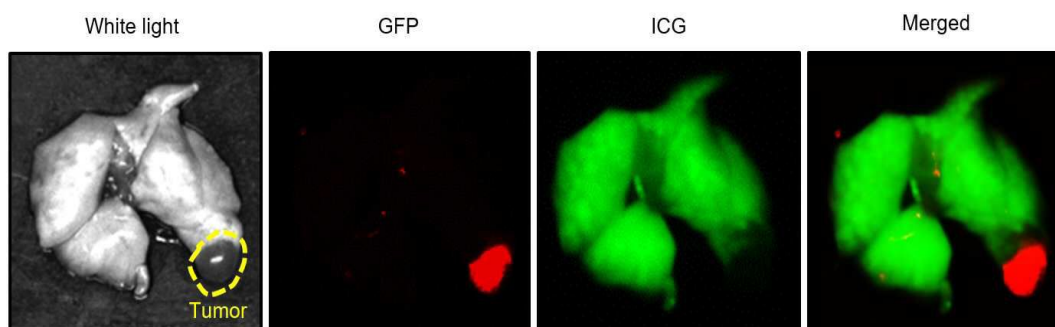
도면2a



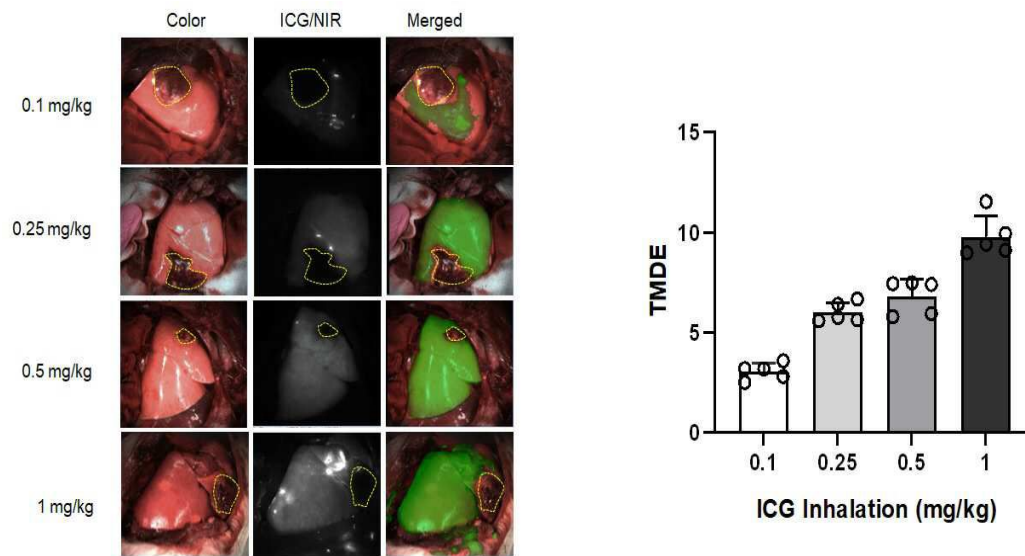
도면2b



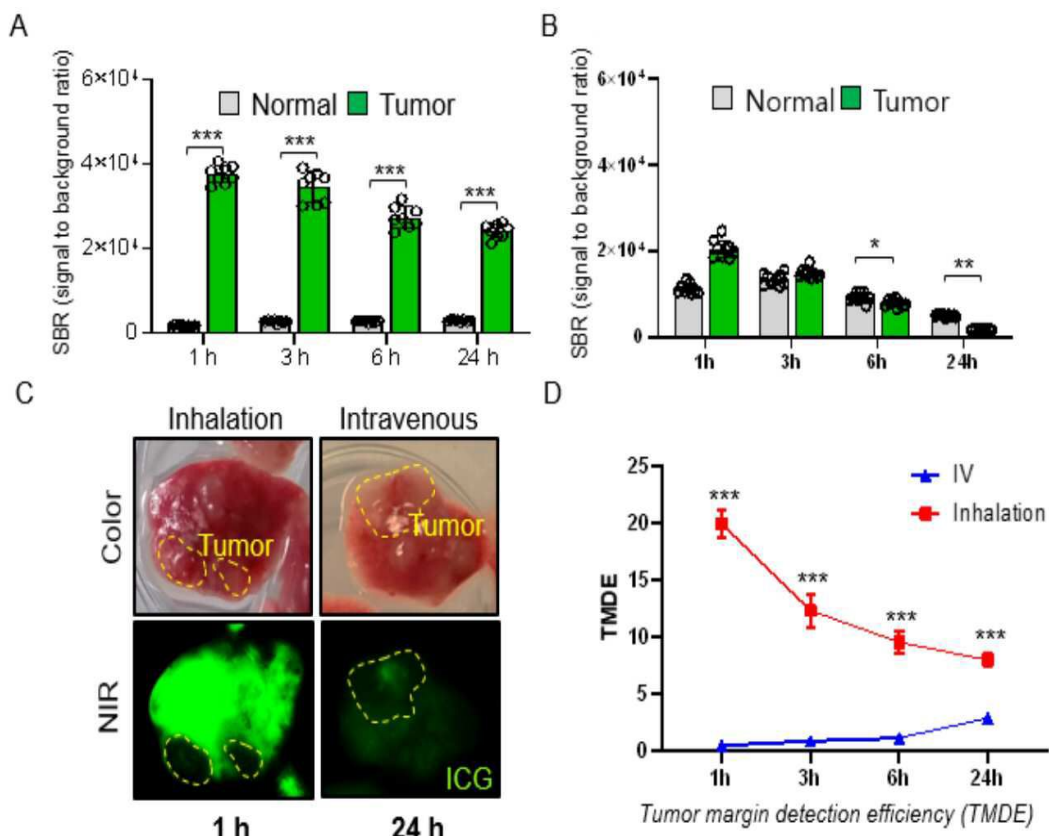
도면2c



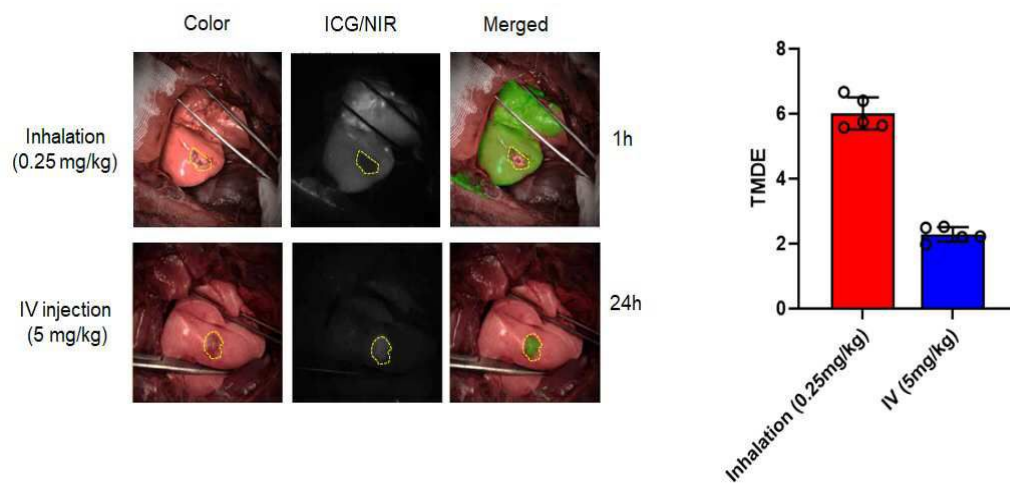
도면3



도면4a



도면4b



도면5

