

## LDH 나노입자 기반의 바이오 이미징 소재

김문희\*\*\* · 하성진\* · 이동기\* · 박대환\*\*†

\*경남대학교 나노신소재공학과  
51767 경상남도 창원시 마산합포구 경남대학교로 7  
\*\*주장대학교 화학·환경공학부  
332005 중국 강서성 주장시  
(2019년 3월 1일 접수, 2019년 4월 10일 채택)

## Layered Double Hydroxide Nanoparticles for Bio-Imaging Applications

Wenji Jin\*\*\*, Seongjin Ha\*, Dongki Lee\* and Dae-Hwan Park\*\*†

\*Department of Nano Materials Science and Engineering, Kyungnam University,  
7, Gyeongsangdaehak-ro, Masanhappo-gu, Changwon-si, Gyeongsangnam-do, 51767, Korea  
\*\*College of Chemistry and Environmental Engineering, Jiujiang University, Jiujiang Jiangxi 332005, P. R. China  
(Received 1 March 2019; accepted 10 April 2019)

### 요 약

Layered double hydroxides (LDHs) 나노입자는 특유의 층상형 결정구조에서 기인된 물리화학적 물성 및 생체친화성을 바탕으로 나노-바이오 분야에서 주목을 받고 있다. 바이오 이미징은 질병의 진단과 치료(테라노스틱스, theranostics=therapy+diagnosis)에 다양하게 활용될 수 있는 핵심적인 분야로 차세대 맞춤형의학으로의 새로운 패러다임 실현을 위해서 보다 정확하고 빠른 진단기술이 절실히 요구되고 있다. 이를 실현하기 위한 대안으로 나노기술이 접목된 고감도 분자영상 관련 연구들이 활발히 진행되고 있다. 본 총설에서는 LDH 나노입자를 기반으로 하는 바이오 이미징 시스템의 개발동향에 관하여 소개하고 바이오 이미징에 적합한 나노소재의 구조 및 합성 방법에 대하여 설명하였다. 또한 임상 의학에서 현재 많이 사용되고 있는 형광을 이용한 광학영상, 자기공명영상(MRI), 핵의학영상(PET), 컴퓨터 단층 촬영(CT) 등 다양한 분야에서 어떻게 LDH 나노입자를 이용하여 나노 프로브 개발을 할 수 있는지 연구 사례를 기술하면서 나노기술과 첨단영상기술이 융합된 획기적인 고감도 나노 바이오 이미징 시스템 개발 및 그 잠재력에 대하여 전망해 보았다.

**Abstract** – Layered double hydroxides (LDHs) nanoparticles have emerged as novel nanomaterials for bio-imaging applications due to its unique layered structure, physicochemical properties, and good biocompatibility. Bio-imaging is one of the most important fields for medical applications in clinical diagnostics and therapeutics of various diseases. Enhanced diagnostic techniques are needed to realize new paradigm for next-generation personalized medicine through nanoscale materials. When nanotechnology is introduced into bio-imaging system, nanoparticle probes can endow imaging techniques with enhanced ability to obtain information about biological system at the molecular level. In this review, we summarize structural features of LDH nanoparticles with current issues of bio-imaging system. LDH nanoparticle probes are also discussed through in vitro as well as in vivo studies in various bio-imaging techniques including fluorescence imaging, magnetic resonance imaging (MRI), positron emission tomography (PET), and computed X-ray tomography (CT), which will have the potential in the development of the advanced nanoparticles with high sensitivity and selectivity.

Key words: Layered double hydroxides (LDHs), Nanoparticles, Bio-imaging, Theranostics

† To whom correspondence should be addressed.

E-mail: dhpark@kyungnam.ac.kr

‡ 이 논문은 연세대학교 설용건 교수님의 정년을 기념하여 투고되었습니다.

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

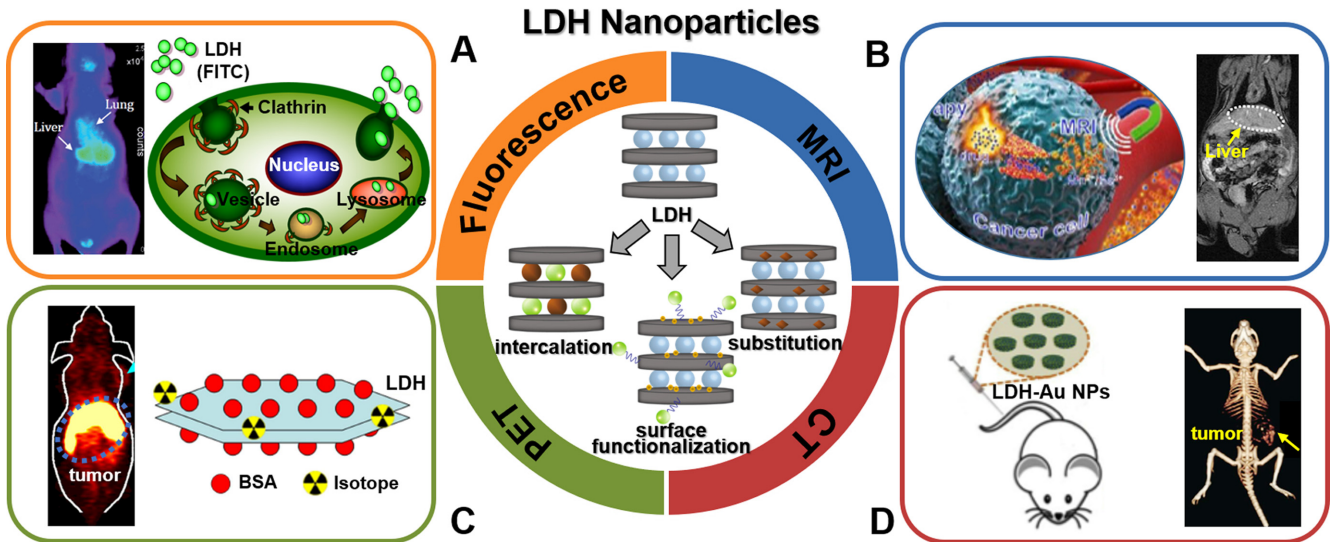


Fig. 1. Overview of layered double hydroxide nanoparticles and their related application systems. A. Fluorescence imaging, reproduced from [30,17], B. magnetic resonance imaging (MRI), reproduced from [15,35], C. positron emission tomography (PET), reproduced from [16], D. computerized tomography (CT), reproduced from [35,12].

## 1. 서 론

바이오 이미징은 생체세포 혹은 세포이하 분자 수준에서 일어나는 다양한 생화학적 변화과정을 영상화, 특성화, 정량화하는 기법이다. 첨단영상기술과 의학, 분자생물학, 유전학, 세포학, 핵의학, 화학, 약학, 물리학 등의 융합을 통하여 급속히 발전하고 있으며 질병의 진단, 치료, 예방 및 치료 후 상태의 지속적인 모니터링 등에 기여할 수 있는 최신 융합 분야이다[1-6]. 4차 산업혁명 시대의 핵심 신기술의 하나인 3D 프린팅과 의료기술이 융합된 바이오프린팅은 환자 맞춤형 치료를 위한 인공피부, 장기, 혈관 등의 제작에 이르기까지 그 활용 분야는 크게 확대되고 있는 추세이지만, 임상적 유효성을 위해서는 바이오 이미징을 통한 신속하고 신뢰도가 높은 정밀한 데이터가 필수적이다. 임상의학에서 대표적으로 가장 많이 사용되고 있는 바이오 이미징 기술은 형광을 이용한 광학영상(fluorescence imaging), 자기공명영상(magnetic resonance imaging), 핵의학영상(positron emission tomography), 컴퓨터 단층 촬영(computed X-ray tomography) 등 민감도와 시간, 공간 분해능이 다른 다양한 영상법(Fig. 1)을 통하여 발전을 거듭해 왔으며 다양한 영상법이 복합적으로 이용되기도 한다[7-18].

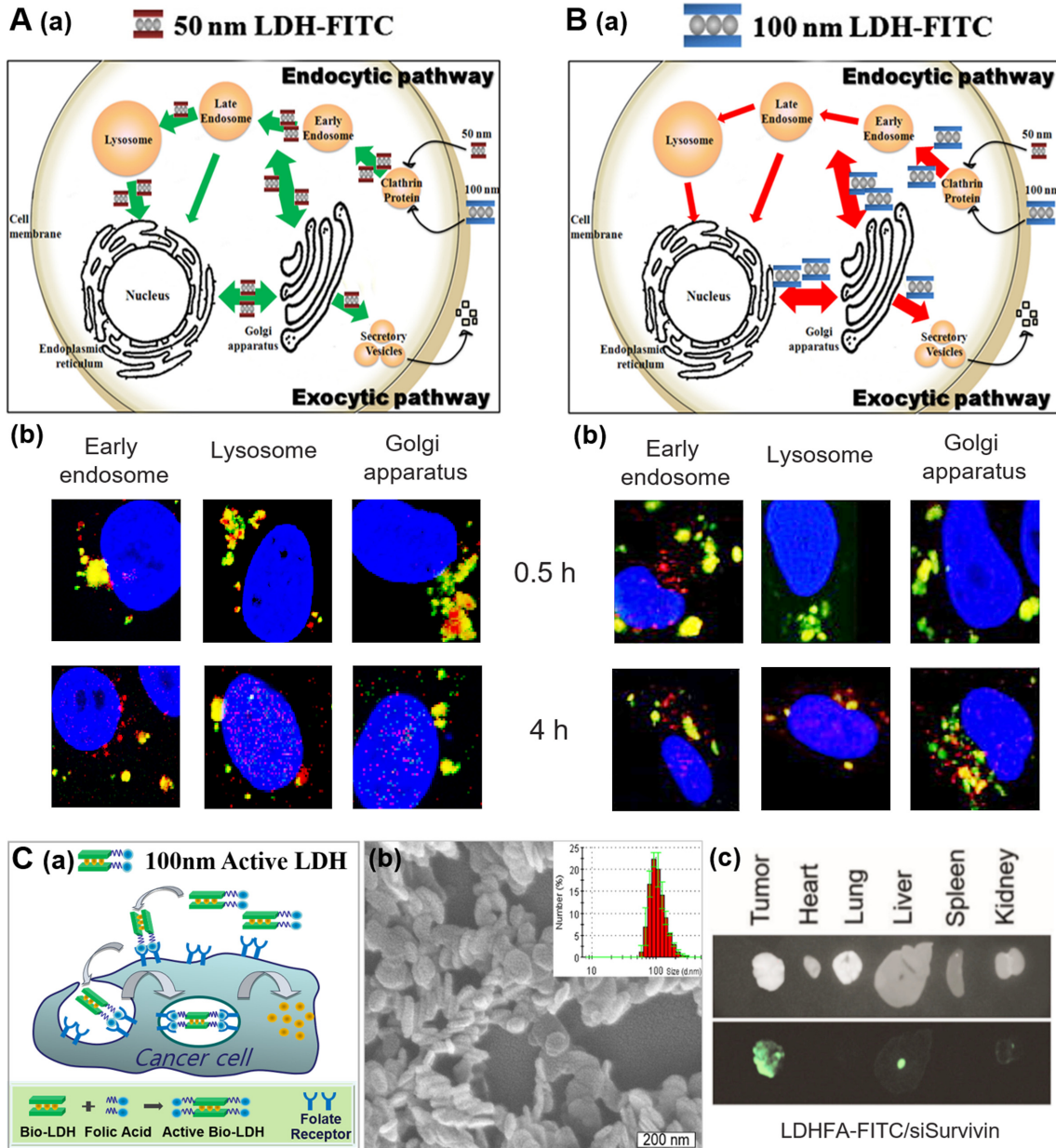
생체친화성 무기 나노입자를 기반으로 하는 나노 조영제 시스템은 나노기술의 발전과 더불어 지속적인 연구성과가 보고되고 있다[19-24]. 다공성 구조를 갖고 있는 실리카 나노입자, 2차원 층상형 구조를 갖고 있는 금속 산화물 나노입자, LDH (layered double hydroxide) 나노입자 등을 기반으로 하는 분자영상 시스템이 대표적인 예이다. 생체친화성이 우수한 LDH는 2차원의 층상구조를 갖고 있는 음이온성 점토로서 2가 금속과 3가 금속의 층상형 수산화물 구조로 이루어져 있으며 금속 이중층내의 3가 금속 이온의 존재로 인하여 층 자체가 양전하를 띠고 있어 층간에 다양한 음이온을 도입시킬 수 있으며 합성 방법을 적절히 제어하여 층간에 삽입하는 음이온 물질이나 분자들의 공간 배열 등을 조절할 수 있다. 또한 무기물질 층 자체를 구성하는 금속의 조성과 층 전하 밀도 등이 쉽게 조절 가능하여 나노

조영제 개발에 있어서 이상적인 물질이다[25-43]. (1) LDH 층간에 음이온성 조영제를 도입하여 정전기적 인력으로 안정화시켜 2차원의 안정적인 층상구조의 나노 조영제를 제조할 수 있다. (2) 양전하를 띤 금속 수산화물 층내에서 적절한 격자 조작을 통하여 다양한 금속 이온 ( $Gd^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$ , etc.)을 도핑하여 조영제용 나노물질을 제조할 수 있다. (3) 층상형 무기 수산화물의 M (금속)-OH 결합을 이용한 LDH 나노입자의 표면 기능화가 가능하여 형광물질 혹은 골드 나노입자 등 물질을 도입하여 나노 조영제 물질로 활용할 수 있다 (Fig. 1).

본 총설에서는 나노기술 발전의 한 축을 이루면서 급성장하고 있는 나노-바이오 융합 분야에서 신규 고감도 나노 조영제 기반의 바이오 이미징 시스템의 연구동향 및 기술개발 현황에 대하여 기술하면서 2차원 층상형 구조를 특징으로 하는 LDH 나노입자 기반의 분자영상 나노 조영제 시스템에 관하여 구조 및 합성방법을 설명한 후, 현재 임상의학에서 보편적으로 사용되고 있는 영상기법을 중심으로 각각의 영상 방법에 적합한 나노 조영제 개발 동향에 대하여 살펴보고자 한다.

## 2. 층상형 LDH 나노입자 기반의 나노 조영제

LDH는 고유하고 있는 층상형 2차원 구조와 우수한 생체친화성 및 생분해성을 바탕으로 나노-바이오 분야에서 각광을 받으면서 관련 연구 결과가 지속적으로 보고되고 있다[44-48]. 1999년 국내 연구팀에서 발표한 양이온성 층 전하를 갖는 LDH의 층간에 음이온성인 DNA 분자를 삽입하여 강한 정전기적 인력에 의해 안정화된 나노입자를 제조함으로써 유전자의 저장가능성을 제시한 연구는 최초의 무기-바이오 하이브리드 소재로 보고되었으며[44], 그 이후로 국내외 많은 연구진은 나노-바이오 분야에서 LDH 나노입자를 기반으로 지속적인 연구를 계속하여 왔다. 그 대표적인 한 분야가 바이오 이미징 기술발전에서 필수적인 요소인 나노 조영제 시스템 관련 연구이다. 앞서 설명한 바와 같이 LDH를 기반으로 하는 나노 조영제 물질의



**Fig. 2.** Intracellular trafficking pathway of the LDH nanoparticles with a size of **A.** 50 nm and **B.** 100 nm: (a) schematic diagram of endocytic and exocytic pathways, (b) confocal microscopic images of the HOS cells treated with LDH-FITC (green) of 50 and 100 nm co-localized (yellowish) in specific organelles (red), early endosome, lysosome, and Golgi apparatus at 0.5 and 4 h, respectively, reproduced from [26]. **C.** (a) Intracellular trafficking pathway of active bio-LDHFA nanoparticles, (b) SEM image and size distribution of LDHFA/siSurvivin, (c) optic and fluorescence images of LDHFA-FITC/siSurvivin, reproduced from [33].

구조는 크게 형광물질 혹은 가돌리늄 이온을 착화하고 있는 형태인 Gd-DTPA (gadolinium (III) diethylenetriamine pentaacetic acid) 등 물질이 무기물질 층간의 게스트층에 도입되는 삽입형, 금속 수산화물 호스트층에서  $Gd^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$  등 다양한 금속 이온으로 도핑하는 치환형, 형광물질 혹은 골드 나노입자 등을 이용한 표면화학을 통한 표면 기능화형 구조로 구분된다. 설명한 세 가지 구조의 나노 조영제 물질은 주로 아래와 같은 네 가지 합성전략을 통하여 제조된다. 이들 합성방법은 (1) 층상형 LDH를 제조하면서 동시에 조영제를 함께 공침시키는 방법인 공침법: 층상구조 LDH의 층간에 조영제를 삽입하거나, 2가지 혹은 3가지 금속염 함유 수용액에 염기 수용액을 적가

하여 층상형 무기 수산화물을 제조하는 단계에서  $Gd^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$  등 조영제 역할을 할 수 있는 금속 이온을 포함시켜 LDH 호스트 층상에 도핑하여 나노 조영제를 제조하는 방법, (2) 층상형 LDH를 제조한 다음 Gd-DTPA 등 물질을 이온교환 반응에 의해 LDH의 층간에 안정화시켜 나노 조영제를 제조하는 이온교환법, (3) 층상형 LDH를 제조한 다음 비슷한 구조의 조영제로 이용 가능한 2가 혹은 3가 금속 이온 ( $Gd^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$ , etc.)으로 치환하여 LDH 무기 호스트 층상에 도핑되는 금속 치환법 및 (4) 제조된 층상형 LDH 나노입자 표면에 조영제 물질을 도입하는 표면 기능화법이다.

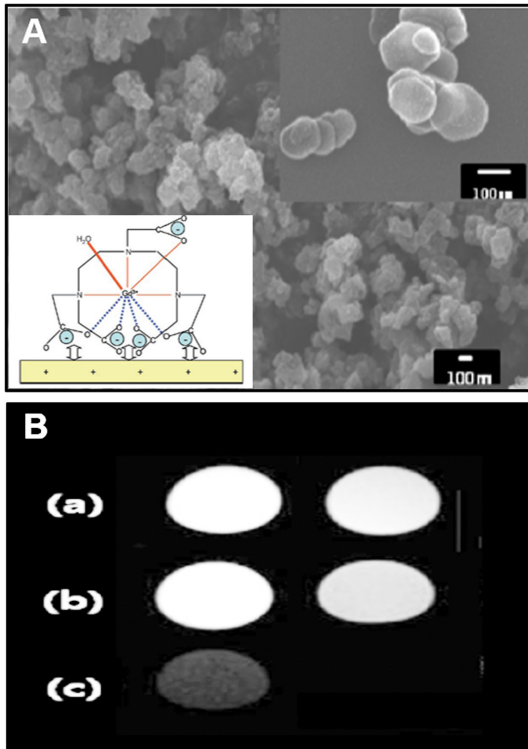


Fig. 3. A. SEM imaging for Gd-DTPA/LDH, schematic of possible configuration and interactions between  $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$  and the positive hydroxide layer (inset image). B. The relaxation time ( $T_1$ ) map for (a) Omniscan<sup>TM</sup> (L: 2.87 mg/mL, R: 0.287 mg/mL), (b) Gd-DTPA/LDH (L: 1.14 mg/mL, R: 0.114 mg/mL), (c) saline, reproduced from [38,43].

### 2-1. 형광을 이용한 광학영상

형광을 이용한 광학영상 기법은 민감도가 가장 좋아서 분자생물학 분야에서 오래전부터 연구개발이 활발히 진행되면서 사용되어 왔다. 방사선이나 방사능을 사용하지 않고 신속하게 영상화 가능한 장점으로 인하여 나노기술의 발전과 더불어 급격히 발전하였으며, 표적 지향성, 지능형 바이오센서로 작동하는 나노 조영제를 이용하여 생체 내에서 분자 수준의 변화를 모니터링 하는데 이용되고 있다.

형광물질로는 녹색 형광을 발하는 물질인 FITC (fluorescein-5-isothiocyanate)가 가장 많이 쓰이며 붉은 형광을 발하는 RITC (rhodamine isothiocyanate)도 사용된다. 2000년 국내 연구팀은 비바 이러스성 벡터인 LDH를 이용하여 증상형 LDH의 증간에 음이온성 전하를 갖는 DNA 등 바이오 분자를 삽입하여 안정된 바이오-LDH 하이브리드물질의 세포내이입이 가능하다고 보고하였다[28]. 바이오-LDH의 결합으로 인해 음이온 바이오분자와 음전하를 띄는 세포막의 정전기적 상호작용이 약화되면서 세포막을 투과하여 세포내로의 전달이 가능하다고 발표하였다. 해당 연구에서는 FITC 형광물질을 LDH 증간에 도입한 후 형광 영상분석을 통하여 바이오-LDH 하이브리드물질이 세포내로 이동하는 메커니즘을 농도별, 시간별로 그 추이를 확인할 수 있었다. 또한 세포내로 이입된 후, 캡슐화된 무기 물질 LDH가 약산성(pH=4-5)을 나타내는 리소좀(lysosome)내에서 천천히 해리되면서 증간에 삽입되었던 바이오 물질이 방출된다. 2006년에는 FITC-LDH를 사용한 세포실험을 진행하여 clathrin 매개체로 하는 세포내재화 가능성을 입증하였고 LDH 표면에 표적지향성

리간드, 항체 등을 이용한 표면기능화 처리 없이도 clathrin에 의한 내포작용으로 세포내로 침투할 수 있으며 전달효율이 효과적으로 향상된다고 보고하였다[30]. 단, 상기와 같이 선택적으로 세포막을 통과하는 메커니즘은 LDH 나노입자 크기가 300 nm 이하에서만 유효한 것으로 밝혀졌다.

관련 연구는 지속적으로 활발히 진행되어 왔고, 2012년 최진호 교수 연구팀은 FITC가 결합된 다양한 크기(50 nm, 100 nm)의 LDH 나노입자가 세포내에 유입되어 이동하는 거동 및 메커니즘을 규명하여 발표하였다[26]. HOS 세포를 이용한 실험으로 세포내의 초기 엔도솜, 후기 엔도솜, 리소솜, 골지체, 소포체 등 각각의 소기관내의 나노입자 수량을 정량분석 하였다. LDH 하이브리드 나노입자는 세포내 재화가 시작되면서 세포내이입 경로(초기 엔도솜 - 후기 엔도솜 - 리소솜) 및 세포외유출 경로(초기 엔도솜 - 골지체 - 소포체 - 골지체)를 따라 이동하게 되는데 이는 물질의 전달, 저장, 해리, 분해 등과 복합적으로 연관되어 있다. 100 nm 나노입자가 세포외유출 경로의 골지체에 다량 존재하는데 반하여, 50 nm 나노입자는 리소솜, 골지체에 균등하게 존재하는 것으로 관찰되었다. 실험결과로부터 나노입자의 입도가 LDH 나노입자에 캡슐화된 약물 혹은 유전자의 세포내재화 및 세포내 이동에서 중요한 역할을 하며 입자 크기를 제어하여 치료 효과를 극대화할 수 있음을 입증하였다. 100 nm LDH 나노입자는 핵산을 소화하기 위한 다양한 효소가 함유된 리소솜을 효과적으로 피해서 이동할 수 있어 유전자 전달에 더 효과적이다(Fig. 2A, 2B).

최근 연구를 살펴보면, 중앙 특이적 다작용기 리간드 FA (folic acid)가 결합되어 있는 증상형 LDH로 siRNA를 캡슐화시켜 나노 하이브리드물질을 제조하여 siRNA의 세포내 안정성 및 전달 효율성을 향상시킴으로써 중앙을 효과적으로 치료할 수 있다는 연구결과도 보고되었다[33] (Fig. 2C). siRNA는 동물세포에서 특정 유전자의 발현을 제어하는데 탁월한 효과가 있는 것으로 밝혀져 유전자 치료제로 각광을 받고 있다[49]. FITC 형광물질을 도입한 LDHFA-FITC/siSurvivin 하이브리드 시스템과 LDH-FITC/siSurvivin 하이브리드 시스템을 비교 분석한 결과, 복강내 주사 30분 후, 두 시스템 모두 폐, 간, 비장 등 다른 기관에 비하여 중앙 부위에서 선택적으로 형광물질이 확인되었지만, LDHFA-FITC/siSurvivin 하이브리드물질을 주사한 그룹의 형광강도가 1.2배 높은 것으로 관찰되어 FA 리간드에 의한 전달 효율성 향상을 확인할 수 있었다. 동물실험을 통하여 100 nm 크기의 LDHFA 나노입자를 이용한 LDHFA/siSurvivin 유전자 치료제 전달시스템은 LDH/siSurvivin 비교그룹보다 KB 중앙에서 복강내 주사 30일 후, 증식 억제 효율이 3배 향상된 것으로 확인되었다.

### 2-2. 자기공명영상(MRI)

자기공명영상은 생체 내부까지 볼 수 있고 대조도와 공간 분해능이 뛰어나 현재 진단용 영상법에 널리 사용되고 있다. 1980년대 후반 처음으로 MRI 조영제가 시판된 이후[50], X-ray 촬영시에는 볼 수 없었던 부분에 대한 관찰이 가능하게 되었으며 인접하고 있는 두 조직간의 대조도를 증강시켜 특정 부위의 신호 증폭 영상을 얻을 수 있는 새로운 나노 조영제에 대한 연구들이 활발히 진행되고 있다. MRI는 생체 내 물분자 수소의 핵스핀의 이완을 측정하는데 크게  $T_1$  (longitudinal relaxation time) 혹은  $T_2$  (transverse relaxation time) 영상을 측정할 수 있다. MRI 조영제는  $T_1$ ,  $T_2$  신호를 증폭하는 역할을 하는  $T_1$  조영제와  $T_2$  조영제로 분류된다.  $T_1$  조영제는 가돌리늄( $\text{Gd}^{3+}$ ), 망간( $\text{Mn}^{2+}$ )계 전이금속 이온과 같은 상자성 물질을 이용하

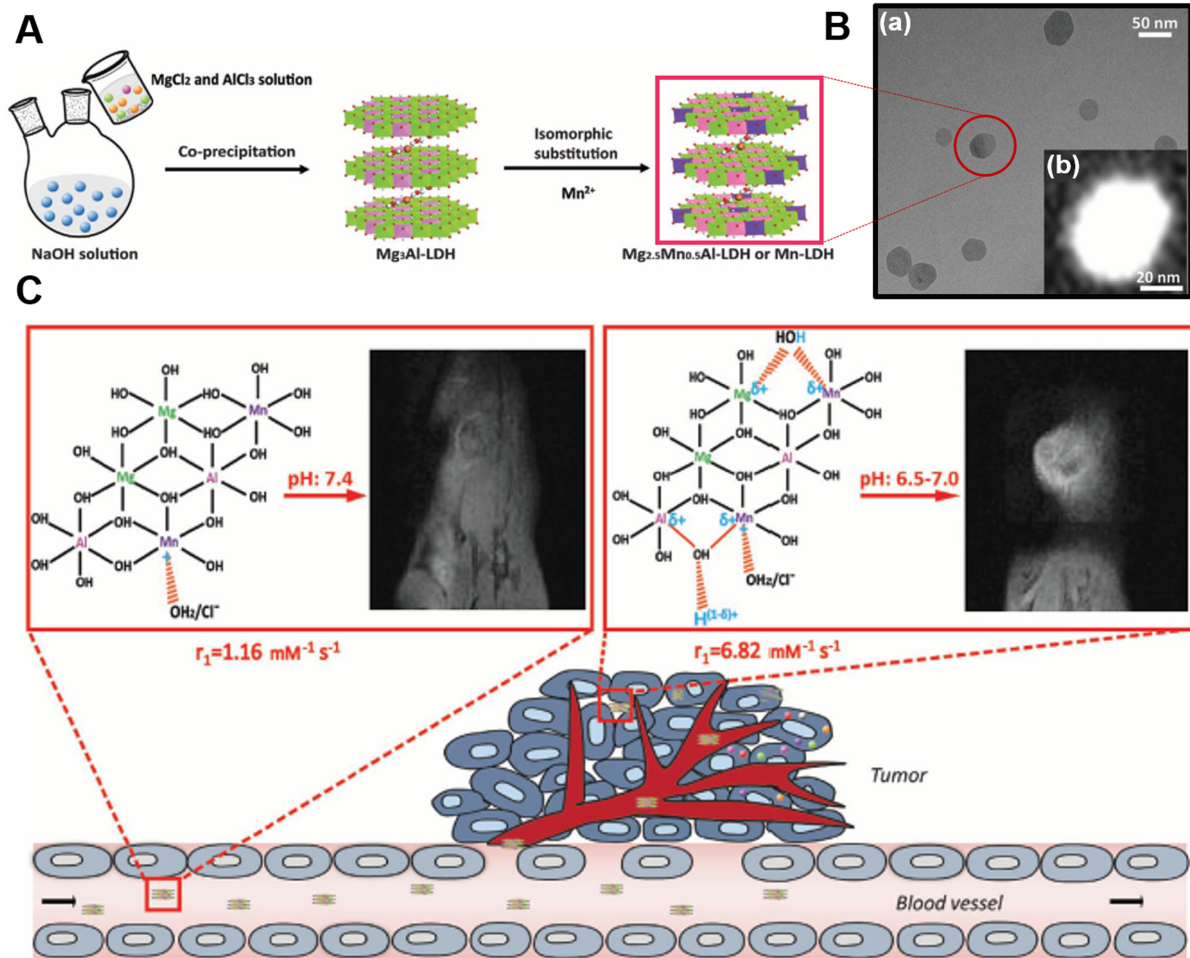


Fig. 4. A. Schematic illustration of synthetic procedure, B. (a) TEM image, (b) STEM image, C. structure related multifunctional properties of Mn-LDH nanoparticles, reproduced from [34].

여 물분자의  $T_1$ 을 짧게 함으로써 물과 비교하여 밝은 신호를 보이기 때문에 양성 조영제로 불리며 이에 반하여,  $T_2$  조영제는 산화철 나노입자와 같은 초상자성 물질로 제조되며 물분자의  $T_2$ 를 짧게 하여 통상 물보다 어두운 신호를 보이기 때문에 음성 조영제로 불린다.

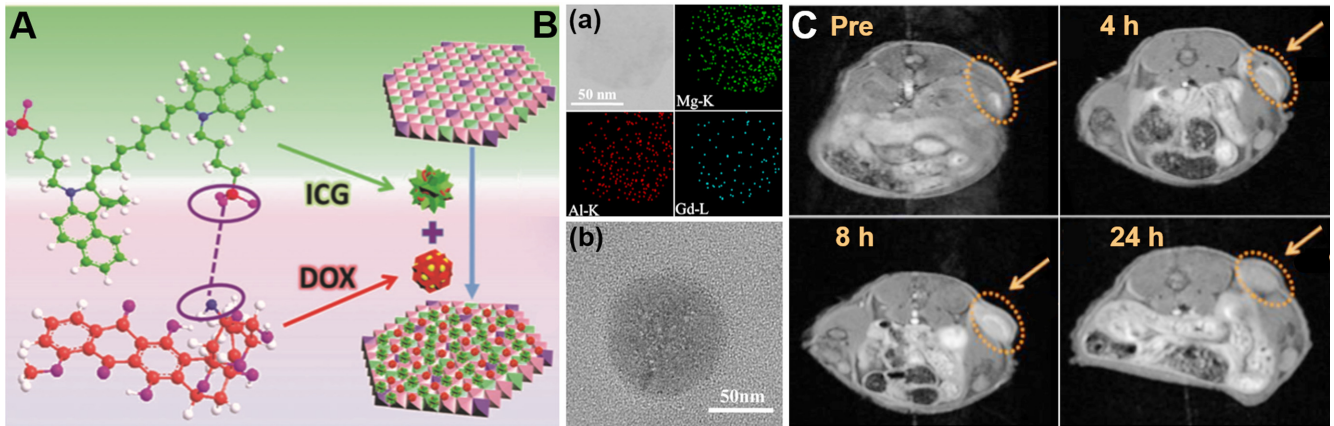
LDH를 기반으로 하는 나노 조영제 관련 연구는 상자성 조영제를 도입하여  $T_1$  강조 영상에서 증강된 신호를 보이게 하는 연구가 주를 이루고 있으며,  $T_1$ 은 조직 해상도가 우수하여 해부학적인 구조를 상대적으로 명확하게 구별할 수 있다. 상자성 조영제는 이온자체의 독성이 강하여 저분자인 DTPA 혹은 DOTA (1,4,7,10-tetraazacyclododecane N,N',N'',N'''-tetraacetic acid)의 착화합제나 혹은 착화합이 가능한 기능그룹을 갖고 있는 생체친화적인 고분자 혹은 무기물과 착화합물을 형성하여 사용된다. 또한 MRI 조영제가 생체 내에서 안정적으로 존재하며 우수한 표적성으로 기대하는 효과를 나타내기 위해서는 균일한 크기의 나노입자 합성과 더불어 표면을 코팅, 기능화하는 기술이 필요하다.

LDH를 기반으로 하는 MRI 조영제 초기 연구의 대표적인 사례는 Gd-DTPA와 같은 조영제 물질을 수산화물 무기물질 층간에 삽입하여  $T_1$  조영제 시스템을 형성하였으며 공침법 혹은 LDH 층상형 물질을 제조한 후 이온교환법으로 나노 조영제 합성이 가능하다고 보고되었다[38,43] (Fig. 3).

그 이후로 많은 연구자들은 조영제로 이용 가능한 2가 혹은 3가 금속 이온( $Gd^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$ , etc.)을 LDH 무기 호스트 층상에 도핑하여 안정화된 나노 조영제를 형성하는 연구를 지속적으로 진행하였으며, 조영제 역할을 할 수 있는 금속 이온을 포함한 2-3가지 금속 이온을 공침시키는 방법으로 LDH기반의 나노 조영제를 자가조립하는 전략 혹은 층상형 LDH를 제조한 다음 비슷한 구조의 금속 이온으로 치환하는 전략을 나노입자의 제조에 활용하였다.

최신 연구동향을 살펴보면,  $Mg_3Al$ -LDH에서  $Mg^{2+}$ 를 일부  $Mn^{2+}$  금속이온으로 치환하여 새로운 Mn-LDH  $T_1$  나노 조영제를 개발하였다[34] (Fig. 4A). 개발된 나노 조영제는 약산성(pH 6.5-7.0, 종양 서식 미세환경의 pH 범위) 환경에서 만족스러운 relaxivity: pH 5.0,  $9.48 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , pH 7.0,  $6.82 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (pH 7.4,  $1.16 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )를 나타내며 종양 세포에 효율적으로 내재화될 수 있고 생체 내에서 2일 이상의 긴 기간(기존 Gd기반의 조영제의 경우 2시간 미만)동안 효과적으로 MRI 이미징 영상을 취득할 수 있을 만큼 획기적인  $T_1$  조영제로서 진단-치료 기술에서의 다양한 응용 가능성을 입증하는 연구로 주목을 받았다.

Mn-LDH 나노 조영제는 pH에 극히 민감한 특성을 나타내는데 이는 LDH 호스트 층내에서의  $Mn^{2+}$ 의 미세구조 변화에서 기인한 것으로 예상하며 X선 흡수광학 미세 구조분석을 통하여 설명하였다(Fig.



**Fig. 5.** A. Schematic illustration of MLDH and DOX&ICG/MLDH. B. (a) STEM image of MLDH nanosheets with corresponding EDX mapping images for Mg, Al and Gd, respectively, (b) HRTEM image of DOX&ICG/MLDH. C. *In vivo* T<sub>1</sub>-weighted MR images of the tumor bearing mice at different time points after i.v. injection of DOX&ICG/MLDH (tumors are indicated by the orange arrows), reproduced from [27].

4C). 생체 환경에서 나노입자들의 응집을 막기 위해 BSA (bovine serum albumin)로 미리 코팅한 BSA/Mn-LDH로 동물실험을 진행하여 T<sub>1</sub> 조영제 효과를 입증하였다. BSA/Mn-LDH는 약 68 nm 크기의 나노입자로 제조되며 코팅 전후, 결정구조 및 pH에 민감하게 반응하는 등 특성에 변화가 없음이 확인되었다. 동물실험 결과로부터 현저한 T<sub>1</sub> 강화 신호가 BSA/Mn-LDH 나노입자의 정맥 내 주사 1시간 후 종양 영역에서 명확하게 관찰되었고, 24시간 동안 강도가 계속 증가하였으며 그 효과가 2일 이상 지속되는 것이 확인 되었다. BSA/Mn-LDH의 이러한 기존 Gd기반의 조영제 대비 대폭 연장된 MR 영상 시간은 생체 내 질병 치료 모니터링, 즉 항암 및 재생 의학을 추적하는데 대안을 제시할 수 있을 것으로 전망된다. 추가로 Mn-LDH 나노입자에 대한 세포독성 실험을 통하여 개발된 나노 조영제 물질은 기존 Gd기반의 조영제 대비 낮은 세포독성을 나타내는 것으로 확인 되었다.

Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O와 Gd(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 3가지 금속 염을 공침법을 이용하여 LDH의 호스트 층에 Gd<sup>3+</sup>이 도핑된 Gd-MgAl-LDH (Gd<sup>3+</sup> 질량비 5%)를 제조하고 DOX (doxorubicin hydrochloride, 화학요법용 항암제) 및 ICG (indocyanine green, 광열 및 광역동치료용 암녹색의 광활성제)를 도입하여 단일층 나노시트 구조를 갖고 있는 LDH 기반의 고성능 다기능화 시스템이 연구 개발되었다[27] (Fig. 5). 보고된 LDH 기반의 다기능화 시스템은 조성 에 대한 정밀한 제어가 가능하고 균일한 결정구조를 나타내며 DOX/ICG에 대하여 99.67%의 높은 캡슐화 비율(encapsulation efficiency)과 797.36%의 초 고밀도 약물 담지율(drug loading content)을 보인다고 보고되었다.

동물실험 결과로부터 형광 및 MRI 영상기법을 포함하는 이중 영상기법을 활용하여 비침습적으로 종양 조직을 영상화 할 수 있음을 확인하였다. 조영제를 평가하는 가장 중요한 지표인 T<sub>1</sub> relaxivity r<sub>1</sub>값이 DOX&ICG/MLDH (monolayered-double-hydroxide)에서 7.93×10<sup>-3</sup> M<sup>-1</sup>S<sup>-1</sup>으로 측정되었는데 이 값은 기존의 Gd-DTPA의 r<sub>1</sub>값 3.5×10<sup>-3</sup> M<sup>-1</sup>S<sup>-1</sup>에 비하여 약 2.27배 우수한 것으로 확인 되었다. DOX&ICG/MLDH의 생체 내 분포를 관찰하기 위하여 MRI 영상기법을 활용하여 동물실험을 진행하였다. 종양을 유발시킨 마우스를 실험대상으로 DOX&ICG/MLDH를 정맥 내 주사 후 종양 부위에서 T<sub>1</sub> 증강된

MR 신호는 점차 증가하여 8시간 후 가장 강한 강도를 나타냈으며 24시간 동안 그 효과가 지속되는 것으로 확인되었다(Fig. 5C). MRI 영상기법은 우수한 침투력과 높은 공간 분해능으로 DOX&ICG/MLDH 정맥 주사 후, 종양 부위에 효과적으로 축적됨에 대한 명확한 정보를 제공할 수 있었다.

세포실험 및 동물실험을 통한 치료평가로부터 DOX&ICG/MLDH는 pH 조절 및 근적외선 조사에 의하여 DOX 항암제가 정확하게 전달 및 방출되어 다중모드 종양 증식을 억제하는 항암 시너지 효과를 확인하였으며 더불어 DOX&ICG/MLDH의 우수한 생체적 합성도 입증하였다.

최근 LDH 기반의 MRI 나노 조영제 관련 연구는 T<sub>1</sub> 조영제 위주로, 무기 수산화물 호스트 층에 조영효과를 나타내는 2가 혹은 3가 금속을 도핑하여 나노 조영제 시스템을 형성하며 약물 전달, 진단 동시 치료 등 다양한 기능을 접목하여 다기능성 나노 하이브리드 시스템을 구축하는 방향으로 연구가 활발히 진행되고 있다.

### 2-3. 핵의학영상(PET)

핵의학영상은 우수한 민감도, 높은 시간 분해능, 3차원 단층 촬영 등의 장점을 가지므로 기타 영상기법과 더불어 폭넓은 응용이 가능하다. PET용 조영제는 양전자 방출 인자를 도입하여 이미지를 얻을 수 있다.

MgAl-LDH의 Mg<sup>2+</sup>을 Co<sup>2+</sup>으로 치환하여 LDH 금속 수산화물 호스트 층상에 Co<sup>2+</sup>을 균일하게 도핑하여 PET용 조영제로서의 응용 가능성을 제시한 연구결과가 보고 되었다[42] (Fig. 6A). MgAl-LDH 나노입자의 크기를 ~250 nm로 제어하였고 Co<sup>2+</sup>의 치환 및 결합은 Mg<sup>2+</sup> 금속 이온의 용해와 밀접한 관계를 가지고 있으며 금속 치환반응을 거치면서 결정상, 나노입자의 크기 및 육각형 판 모양의 형태에는 큰 변화가 없었다. 현미경 에너지 분산형 분광분석기(TEM-EDS) 분석을 활용하여 치환반응을 통하여 얻어진 Co/MgAl-LDH에서 Co<sup>2+</sup>는 호스트 층상에 균일하게 분포하였고, 고체 UV-vis 분석 및 X-선 흡수분광분석을 통하여 Co<sup>2+</sup>가 Mg<sup>2+</sup> 금속 이온을 치환한 후 LDH 금속 수산화물 층상에 잘 안정화되었음을 확인하였다.

킬레이트제를 사용하지 않고 <sup>64</sup>Cu<sup>2+</sup>, <sup>44</sup>Sc<sup>3+</sup> 동위원소를 LDH에 안정적으로 라벨링하여 생체내에서 PET용 조영제로 사용 가능하다

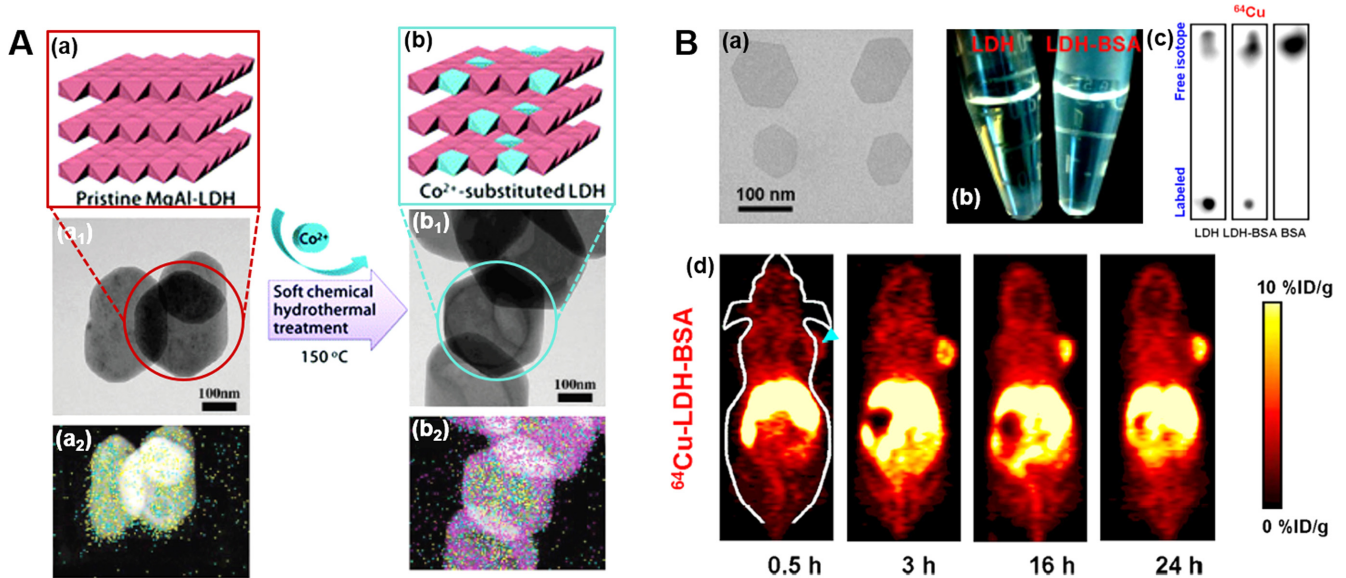


Fig. 6. A. Schematic illustration, TEM images and corresponding energy dispersive spectroscopy (EDS) mapping images of pristine LDH (a, a<sub>1</sub>, a<sub>2</sub>) and Co<sup>2+</sup>-substituted LDH (b, b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>) in 0.02 M Co<sup>2+</sup> solution under 150 °C hydrothermal conditions. (Legend: yellow=Mg<sup>2+</sup>, cyan=Al<sup>3+</sup>, magenta=Co<sup>2+</sup>.) Reproduced from [42]. B. (a) TEM image of LDH nanoparticles, (b) LDH aggregated but LDHBSA remained stable after incubating LDH and LDH-BSA (4.7 mg/mL) in PBS for 7 days, (c) autoradiographic images of TLC plates of LDH, LDH-BSA and BSA after chelator-free labeling with <sup>64</sup>Cu, (d) *In vivo* PET imaging. Serial coronal PET images at different time points post-injection of <sup>64</sup>CuLDH-BSA were acquired in 4T1 tumor-bearing mice. Reproduced from [16].

는 연구결과도 보고되었다[16] (Fig. 6B). 공침 및 수열반응을 통하여 입자크기가 100-150 nm로 제어된 Mg<sub>2</sub>Al-LDH 나노입자를 제조하였다(Fig. 6B(a)). 생체 환경에서의 LDH의 분산 및 안정성을 향상시키기 위하여 음이온성 단백질인 BSA를 이용하여 양이온의 LDH 표면을 코팅하여 LDH-BSA 나노입자를 형성하였고(Fig. 6B(b)) PBS (phosphate buffered saline)에서 처리하여 그 안정성을 확인하였다. 2가 <sup>64</sup>Cu<sup>2+</sup>, 3가 <sup>44</sup>Sc<sup>3+</sup>, 4가 <sup>89</sup>Zr<sup>4+</sup> 동위원소를 각각의 서로 다른 조건과 용매에서 LDH-BSA 나노입자와 혼합하여 라벨링 시킨 후, TLC (thin-layered chromatography) 분석을 통하여 안정적으로 라벨링된 동위원소의 수율을 확인할 수 있었다(Fig. 6B(c)). 확인 결과, <sup>64</sup>Cu<sup>2+</sup>, <sup>44</sup>Sc<sup>3+</sup> 동위원소는 안정적으로 LDH-BSA 나노입자에 라벨링된 반면에, <sup>89</sup>Zr<sup>4+</sup> 동위원소는 유효한 라벨링이 관찰되지 않았는데 이는 LDH의 결정구조와 맞지 않기 때문에 안정화가 불가능한 것으로 예상하였다. 동시에 LDH-BSA, LDH, BSA를 각각 이용하여 동위원소를 라벨링 시키는 실험을 진행하여 LDH가 동위원소를 효율적으로 라벨링하여 안정시킬 수 있다는 것을 입증하였다.

형성된 <sup>64</sup>Cu-LDH-BSA는 우선 PBS, complete mouse serum에서 24시간 처리하여 각각 89.3±1.6%, 91.6±3.1%의 <sup>64</sup>Cu<sup>2+</sup>가 LDH-BSA 나노입자내에 안정적으로 존재한다는 것을 확인할 수 있었다. <sup>64</sup>Cu-LDH-BSA는 유방암 쥐 모델에서 4T1 종양에 정맥 주사하여 생체 내 분포를 확인하였는데 PET 영상을 통하여 정맥 주사 후 0.5, 3, 16, 24시간 후 각 시간대별 ROI (region-of-interest) 정량 데이터 분석을 통하여(주입 후 16시간, 7.7±0.1% ID/g, n = 3) 수동형 표적만으로 효율적인 종양 섭취가 이루어졌음을 확인하였다(Fig. 6B(d)). 이러한 연구결과는 LDH가 다양한 2가 및 3가의 방사성 금속 동위원소로 라벨링 될수 있는 다기능 플랫폼이며 PET영상 유도 약물 전달에 매우 바람직한 나노입자임을 보여주었다.

#### 2-4. 컴퓨터 단층 촬영(CT)

X-선을 사용하는 컴퓨터 단층 촬영은 방사선 분야의 대표적인 영상 장치로서, 뼈처럼 밀도 있는 구조물은 효과적으로 영상화 할 수 있으나, 부드러운 조직을 영상화 할 때는 선명도가 크게 감소하여 조직과 주변부위를 구분하는데 한계가 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위해 CT용 조영제에 대한 많은 연구가 이루어 지고 있다.

Au 나노입자를 이용하여 Gd가 도핑된 MgAl-LDH를 표면 기능화 시킴으로써 생체 내에서 활용 가능한 CT 조영제가 보고되었다[35] (Fig. 7B). CT 조영제로서 Au 나노입자를 이용하는 연구가 진행되고 있는데 Au 나노입자는 요오드에 비해 분자량이 크기 때문에 단위 무게당 X선 흡수계수가 2.5배 이상 높으며 나노입자 크기 제어가 용이하고 다양한 방법으로 표면 개질이 가능하며 생체적합성이 잘 알려져 있어 활용가치가 높다.

해당 연구에서는 평균 입자크기가 3.4 nm인 Au 나노입자를 LDH-Gd의 표면에 기능화 시키는 방법으로 나노입자 크기가 약 138 nm 수준의 LDH-Gd/Au 나노 복합체를 제조하였다(Fig. 7A). 나노 복합체의 CT 조영제로서의 활용 가능성을 입증하기 위하여 세포 실험 및 동물실험을 진행하였다. Iobitridol CT용 조영제를 대조군으로 사용하여 동일한 농도(mol (Au+Gd)/L, mol I/L)에서 LDH-Gd/Au 나노 복합체가 우수한 CT 영상 효과를 나타내는 것이 관찰되었고 X-선 흡수 정도를 정량적으로 나타내는 HU (hounsfield unit) 분석을 통하여 같은 농도에서 약 2.5배 수준의 뚜렷한 향상 효과가 확인되었다(Fig. 7C, 7D).

Kunming mice를 이용한 동물실험에서 CT 영상을 살펴보면 LDH-Gd/Au 나노 복합체를 주사하기 전에는 간, 비장 등 장기가 명확하게 구분되지 않는데 반해, 나노 복합체 주입 10분 후부터 간, 비장이 명확하게 구분 가능하며(Fig. 7E) HU 정량분석을 통하여 간의

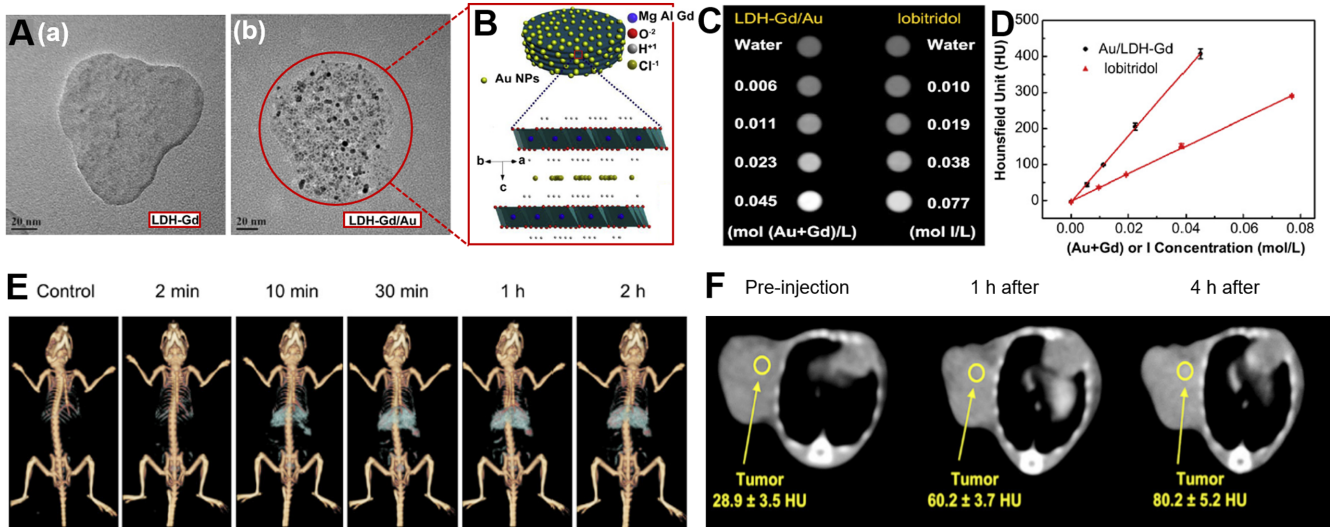


Fig. 7. A. SEM images of (a) LDH-Gd, (b) LDH-Gd/Au, B. schematic illustration of LDH-Gd/Au, C. CT images and D. CT value (HU) plots of aqueous solutions of iobitridol and LDH-Gd/Au at different concentrations, E. *In vivo* CT imaging of Kunming mice after intravenous injection of LDH-Gd/Au solution for different time periods (3D volume Rendering CT images), F. CT images of tumor after intravenous injection LDH-Gd/Au-heparin (dosage: 72.4 mg Au/kg) in 4T1 murine breast tumor-bearing mice for 0 h, 1 h and 4 h, reproduced from [35].

경우 초기의 71.4에서 주입 후 1시간 후에 78% 증가된 127.3, 비장의 경우 초기의 62.6에서 주입 0.5시간 후 120% 향상된 137.9의 각각 가장 높은 흡수량이 관찰되었다. 추가로 진행된 유방암 murine 모델에서 4T1 종양에 정맥 주사하여 CT 영상기법을 통하여 주사 전, 주사 1시간, 4시간 후의 영상을 획득하여 분석한 결과 HU 값이 28.9에서 60.2, 80.2로 뚜렷한 증가효과를 나타내어(Fig. 7F) LDH-Gd/Au 나노 복합체의 우수한 생체 내 분산성과 CT 조영제로서의 응용 가능성을 입증하였다. 본 연구에서도 LDH-Gd/Au 나노 복합체는 CT/MRI 이중영상성이 가능한 조영제 시스템이며 항암물질 도입으로 약물전달이 가능한 LDH 기반의 다기능성 플랫폼을 개발하여 다양한 응용 가능성을 제시하였다.

### 3. 결 론

본 총설에서는 2차원 층상형 구조를 가지고 있고 생체친화성이 우수하고 생체내분해가 가능한 LDH 나노입자를 기반으로 하는 바이오 이미징 소재의 최근 연구동향을 소개하였다. LDH 나노입자를 이용한 나노 바이오 이미징 소재의 구조 및 합성방법에 대하여 정리하고 민감도와 공간 분해능이 서로 다른 다양한 영상기법, 즉 형광을 이용한 광학영상, 자기공명영상, 핵의학영상, 컴퓨터 단층 촬영 영상기법을 중심으로 연구 개발되고 있는 LDH 나노입자 기반의 소재들을 구체적으로 설명하였다.

의학적 패러다임이 질병의 치료에서 조기 진단 및 예방으로 변화하고 있으며 진단 분야에서 신속성과 신뢰도 향상에 대한 필요성이 대두되고 있는 추세로, 획기적인 고감도 분자영상 나노 조영제 시스템 개발은 약물전달, 유전자치료, 광열치료제와 접목하여 질병의 치료과정을 모니터링하고 정확하고 신속한 질병의 조기 진단을 실현하며, 더 나아가 맞춤형 치료법 개발 및 신약 개발을 가속화할 수 있는 발판을 제공할 것으로 전망된다.

### Acknowledgement

This work was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government (MSIT) (No. NRF-2019R1G1A1006582). This research was also financially supported by the Ministry of Trade, Industry, and Energy (MOTIE), Korea, under the “Regional Innovation Cluster Development Program (non-R&D, P0004798)” supervised by the Korea Institute for Advancement of Technology (KIAT). W. J. Jin acknowledges the support of Jiujiang University.

### References

1. Qian, X., Peng, X. H., Ansari, D. O., Yin-Goen, Q., Chen, G. Z., Shin, D. M., Yang, L., Young, A. N., Wang, M. D. and Nie, S., “In Vivo Tumor Targeting and Spectroscopic Detection with Surface-Enhanced Raman Nanoparticle Tags,” *Nat. Biotechnol.*, **26**, 83-90(2007).
2. Michalet, X., Pinaud, F. F., Bentouilla, L. A., Tsay, J. M., Doose, S., Li, J. J., Sundaresan, G., Wu, A. M., Gambhir, S. S. and Weiss, S., “Quantum Dots for Live Cells, in Vivo Imaging, and Diagnostics,” *Science*, **307**, 538-544(2005).
3. Cao, Y. W., Jin, R. and Mirkin, C. A., “Nanoparticles with Raman Spectroscopic Fingerprints for DNA and RNA Detection,” *Science*, **297**, 1536-1540(2002).
4. Weissleder, R., “Molecular Imaging in Cancer,” *Science*, **312**, 1168-1171(2006).
5. Ahrens, E. T. and Bulte, J. W. M., “Tracking Immune Cells In Vivo Using Magnetic Resonance Imaging,” *Nat. Rev. Immunol.*, **13**, 755-763(2013).
6. Yang, J., Lee, C. H., Ko, H. J., Suh, J. S., Yoon, H. G., Lee, K., Huh, Y. M. and Haam, S., “Multifunctional Magneto-polymeric

- Nanohybrids for Targeted Detection and Synergistic Therapeutic Effects on Breast Cancer? *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, 8836-8839(2007).
7. Lee, D. H., Koo, H., Sun, I. C., Ryu, J. H., Kim, K. and Kwon, I. C., "Multifunctional Nanoparticles for Multimodal Imaging and Theragnosis," *Chem. Soc. Rev.*, **41**, 2656-2672(2012).
  8. Cheon, J. and Lee, J. H., "Synergistically Integrated Nanoparticles as Multimodal Probes for Nanobiotechnology," *Acc. Chem. Res.*, **41**, 1630-1640(2008).
  9. Choi, J. S., Park, J. C., Nah, H., Woo, S., Oh, J., Kim, K. M., Cheon, G. J., Chang, Y. C., Yoo, J. Y. and Cheon, J., "A Hybrid Nanoparticle Probe for Dual-modality Positron Emission Tomography and Magnetic Resonance Imaging," *Angew. Chem. Int. Ed.*, **47**, 6259-6262(2008).
  10. Yang, J., Lim, E. M., Lee, H. J., Park, J., Lee, S. C., Lee, K., Yoon, H. G., Suh, J. S., Huh, Y. M. and Haam, S., "Fluorescent Magnetic Nanohybrids as Multimodal Imaging Agents for Human Epithelial Cancer Detection," *Biomaterials*, **29**, 2548-2555(2008).
  11. Shin, T. H., Choi, Y., Kim, S. and Cheon, J., "Recent Advances in Magnetic Nanoparticle-based Multi-modal Imaging," *Chem. Soc. Rev.*, **44**, 4501-4516(2015).
  12. Ashton, J. R., West, J. L. and Badea, C. T., "In vivo Small Animal Micro-CT Using Nanoparticle Contrast Agents," *Front. Pharmacol.*, **6**, Article 256(2015).
  13. Yoon, Y. S., Lee, B. I., Lee, K. S., Im, G. H., Byeon, S. H., Lee, J. H. and Lee, I. S., "Surface Modification of Exfoliated Layered Gadolinium Hydroxide for the Development of Multimodal Contrast Agents for MRI and Fluorescence Imaging," *Adv. Funct. Mater.*, **19**, 3375-3380(2009).
  14. Park, D. H., Choi, G. and Choy, J. H., "Bio-Layered Double Hydroxides Nanohybrids for Theranostics Applications," *Photo-functional Layered Materials, Structure and Bonding* **166**, 137-174(2015).
  15. Huang, G., Zhang, K. L., Chen, S., Li, S. H., Wang, L. L., Wang, L. P., Liu, R., Gao, J. and Yang, H. H., "Manganese-iron Layered Double Hydroxide: a Theranostic Nanoplatfrom with pH-Responsive MRI Contrast Enhancement and Drug Release," *J. Mater. Chem. B.*, **5**, 3629-3633(2017).
  16. Shi, S., Fliss, B. C., Gu, Z., Zhu, Y., Hong, H., Valdovinos, H. F., Hernandez, R., Goel, S., Luo, H., Chen, F., Bamhart, T. E., Nickles, R. J., Xu, Z. P. and Cai, W., "Chelator-Free Labeling of Layered Double Hydroxide Nanoparticles for in Vivo PET Imaging," *Sci. Rep.*, **5**, Article number: 16930(2015).
  17. Wei, P. R., Cheng, S. H., Liao, W. N., Kao, K. C., Weng, C. F. and Lee, C. H., "Synthesis of Chitosan-coated Near-infrared Layered Double Hydroxide Nanoparticles for in vivo Optical Imaging," *J. Mater. Chem.*, **22**, 5503(2012).
  18. Wang, X., Li, J. G., Zhu, Q., Li, X., Sun, X. and Sakka, Y., "Synthesis, Characterization, and Photoluminescent Properties of  $(La_{0.95}Eu_{0.05})_2O_2SO_4$  Red Phosphors with Layered Hydroxyl Sulfate as Precursor," *J. Alloy. Compd.*, **603**, 28-34(2014).
  19. Cha, B. G. and Kim, J., "Functional Mesoporous Silica Nanoparticles for Bio-imaging Applications," *WIREs Nanomed Nanobio-technol.*, e1515(2018).
  20. Medintz, I. L., Uyeda, H. T., Goldman, E. R. and Mattoussi, H., "Quantum Dot Bioconjugates for Imaging, Labelling and Sensing," *Nat. Mater.*, **4**, 435-446(2005).
  21. Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Elst, L. V. and Muller, R. N., "Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications," *Chem. Rev.*, **108**, 2064-2110(2008).
  22. Na, H. B., Song, I. C. and Hyeon, T., "Inorganic Nanoparticles for MRI Contrast Agents," *Adv. Mater.*, **21**, 2133-2148(2009).
  23. Choi, J., Jun, Y., Yeon, S. I., Kim, H. C., Shin, J. S. and Cheon, J., "Biocompatible Heterostructured Nanoparticles for Multimodal Biological Detection," *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 15982-15983(2006).
  24. Huang, H. C., Barua, S., Sharma, G., Dey, S. K. and Rege, K., "Inorganic Nanoparticles for Cancer Imaging and Therapy," *J. Controlled Release.*, **155**, 344-357(2011).
  25. Oh, J. M., Hwang, S. H. and Choy, J. H., "The Effect of Synthetic Conditions on Tailoring the Size of Hydrotalcite Particles," *Solid State Ionics*, **151**, 285-291(2002).
  26. Chung, H. E., Park, D. H., Choy, J. H. and Choi, S. J., "Intracellular Trafficking Pathway of Layered Double Hydroxide Nanoparticles in Human Cells: Size-dependent Cellular Delivery," *Appl. Clay. Sci.*, **65-66**, 24-30(2012).
  27. Peng, L., Mei, X., He, J., Xu, J., Zhang, W., Liang, R., Wei, M., Evans, D. G. and Duan, X., "Monolayer Nanosheets with an Extremely High Drug Loading toward Controlled Delivery and Cancer Therapeutics," *Adv. Mater.*, **30**, 1707389(2018).
  28. Choy, J. H., Kwak, S. Y., Jeong, Y. J. and Park, J. S., "Inorganic Layered Double Hydroxides as Nonviral Vectors," *Angew. Chem.*, **39**, 4041-4045(2000).
  29. Choy, J. H., Kwak, S. Y., Park, J. S. and Jeong, Y. J., "Cellular Uptake Behavior of  $[\gamma^{32}P]$  Labeled ATP-LDH Nanohybrids," *J. Mater. Chem.*, **11**, 1671-1674(2001).
  30. Oh, J. M., Choi, S. J., Kim, S. T. and Choy, J. H., "Cellular Uptake Mechanism of an Inorganic Nanovehicle and Its Drug Conjugates: Enhanced Efficacy Due To Clathrin-Mediated Endocytosis," *Bioconjugate Chem.*, **17**, 1411-1417(2006).
  31. Oh, J. M., Choi, S. J., Lee, G. E., Kim, J. E. and Choy, J. H., "Inorganic Metal Hydroxide Nanoparticles for Targeted Cellular Uptake Through Clathrin-Mediated Endocytosis," *Chem. Asian. J.*, **4**, 67-73(2009).
  32. Wei, P. R., Kuthati, Y., Kankala, R. and Lee, C. H., "Synthesis and Characterization of Chitosan-Coated Near-Infrared (NIR) Layered Double Hydroxide-Indocyanine Green Nanocomposites for Potential Applications in Photodynamic Therapy," *Int. J. Mol. Sci.*, **16**, 20943-20968(2015).
  33. Park, D. H., Cho, J., Kwon, O. J., Yun, C. O. and Choy, J. H., "Biodegradable Inorganic Nanovector: Passive versus Active Tumor Targeting in siRNA Transportation," *Angew. Chem. Int. Ed.*, **55**, 4582-4586(2016).
  34. Li, B., Gu, Z., Kurniawan, N., Chen, W. and Xu, Z. P., "Manganese-Based Layered Double Hydroxide Nanoparticles as a  $T_1$  - MRI Contrast Agent with Ultrasensitive pH Response and High Relaxivity," *Adv. Mater.*, **29**, 1700373(2017).
  35. Wang, L., Xing, H., Zhang, S., Ren, Q., Pan, L., Zhang, K., Bu, W., Zheng, X., Zhou, L., Peng, W., Hua, Y. and Shi, J., "A Gd-doped Mg-Al-LDH/Au Nanocomposite for CT/MR Bimodal Imagings and Simultaneous Drug Delivery," *Biomaterials*, **34**, 3390-3401(2013).
  36. Guan, S., Liang, R., Li, C. and Wei, M., "A Supramolecular Material for Dual-modal Imaging and Targeted Cancer Therapy,"

- Talanta*, **165**, 297-303(2017).
37. Arratia-Quijada, J., Sánchez Jiménez, C., Gurinov, A., Pérez Centeno, A., Ceja Andrade, I. and Carbajal Arízaga, G. G., "Dysprosium-containing Layered Double Hydroxides Nanoparticles Intercalated with Biologically Active Species as an Approach for Theranostic Systems," *Mater. Sci. Eng., B.*, **203**, 7-12(2016).
  38. Kim, S. Y., Oh, J. M., Lee, J. S., Kim, T. J. and Choy, J. H., "Gadolinium (III) Diethylenetriamine Pentaacetic Acid/Layered Double Hydroxide Nanohybrid as Novel T<sub>1</sub>-Magnetic Resonant Nanoparticles," *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **8**, 5181-5184(2008).
  39. Mei, X., Wang, W., Yan, L., Hu, T., Liang, R., Yan, D., Wei, M., Evans, D. and Duan, X., "Hydrotalcite Monolayer Toward High Performance Synergistic Dual-modal Imaging and Cancer Therapy," *Biomaterials*, **165**, 14-24(2018).
  40. Zuo, H., Chen, W., Li, B., Xu, K., Cooper, H., Gu, Z. and Xu, Z. P., "MnAl Layered Double Hydroxide Nanoparticles as a Dual-Functional Platform for Magnetic Resonance Imaging and siRNA Delivery," *Chem. Eur. J.*, **23**, 14299-14306(2017).
  41. Li, B., Tang, J., Chen, W., Hao, G., Kurniawan, N., Gu, Z. and Xu, Z. P., "Novel Theranostic Nanoplatform for Complete Mice Tumor Elimination via MR Imaging-guided acid-enhanced photothermo-/chemo-therapy," *Biomaterials*, **177**, 40-51(2018).
  42. Kim, T. H., Lee, W. J., Lee, J. Y., Paek, S. M. and Oh, J. M., "Isomorphous Substitution of Divalent Metal Ions in Layered Double Hydroxides Through a Soft Chemical Hydrothermal Reaction," *Dalton Trans.*, **43**, 10430(2014).
  43. Xu, Z. P., Kurniawan, N. D., Bartlett, P. F. and Lu, G. Q., "Enhancement of Relaxivity Rates of Gd-DTPA Complexes by Intercalation into Layered Double Hydroxide Nanoparticles," *Chem. Eur. J.*, **13**, 2824-2830(2007).
  44. Choy, J. H., Kwak, S. Y., Park, J. S., Jeong, Y. J. and Portier, J., "Intercalative Nanohybrids of Nucleoside Monophosphates and DNA in Layered Metal Hydroxide," *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 1399-1400(1999).
  45. Choy, J. H., Choi, S. J., Oh, J. M. and Park, T., "Clay Minerals and Layered Double Hydroxides for Novel Biological Applications," *Appl. Clay Sci.*, **36**, 122-132(2007).
  46. Oh, J. M., Park, D. H., Choi, S. J. and Choy, J. H., "LDH Nanoparticles as Bio-reservoirs and Drug Delivery Carriers," *Recent Pat. Nanotech.*, **6**, 200-217(2012).
  47. Mishra, G., Dash, B. and Pandey, S., "Layered Double Hydroxides: A Brief Review from Fundamentals to Application Asevolving Biomaterials," *Appl. Clay Sci.*, **153**, 172-186(2018).
  48. Oh, J. M., Choi, S. J., Lee, G. E., Han, S. H. and Choy, J. H., "Inorganic Drug-delivery Nanovehicle Conjugated with Cancer-Cell-Specific Ligand," *Adv. Funct. Mater.*, **19**, 1617-1624(2009).
  49. Kurreck, J., "RNA Interference: From Basic Research to Therapeutic Applications," *Angew. Chem. Int. Ed.*, **48**, 1378-1398(2009).
  50. Caravan, P., Ellison, J. J., McMurry, T. J. and Lauffer, R. B., "Gadolinium (III) Chelates as MRI Contrast Agents: Structure, Dynamics, and Applications," *Chem. Rev.*, **99**, 2293-2352(1999).