

13

Sodium Iodide Symporter (NIS)를 영상 리포터 유전자로 이용한 내인성 p53 유전자 발현의 평가

서울대학교 의과대학 핵의학교실

김광일*, 정준기, 강주현, 이웅진, 신재훈, 오현정, 정재민, 이동수, 이명철

목적: 감마 카메라 영상을 통한 내인성 유전자 발현 측정법을 개발하기 위해 human NIS (hNIS) 유전자를 리포터 유전자로 이용하여 내인성 p53 유전자의 발현을 평가하였다. **방법:** hNIS의 발현이 p53RE (p53 Response Element)의 조절을 받는 리포터 벡터 (cis-p53RE-hNIS)를 제작하였다. cis-p53RE-hNIS 리포터 유전자를 사람 간암 세포주 (SK-Hep1)에 리포솜으로 이입하고 Geneticin으로 2주간 선별하였다 (SK-Hep1-p53NIS). 방사성 요오드 섭취로 hNIS 유전자의 발현을 측정하고 potassium perchlorate에 의한 저해 실험으로 hNIS의 기능을 확인하였다. SK-Hep1-p53NIS 세포에 adriamycin을 농도별(0.0125, 0.05, 0.5 M)로 처리하여 내인성 p53 유전자를 활성화 시키고, 24시간 후에 방사성 요오드의 섭취를 측정하였다. 발현된 p53 단백질의 양은 p53 단백질 특이적 항체로 Western blot 분석으로 측정하였다. SK-Hep1-p53NIS 세포를 누드 마우스에 이식하고 7일간 배양 하여 종괴를 형성하였다. 이 종양 유발 마우스에서 adriamycin (2 mg/kg i.p.)의 처리 전후에 따른 감마카메라 영상을 99mTc을 이용하여 얻었다. **결과:** SK-Hep1-p53NIS 세포에 adriamycin을 처리한 결과 대조군보다 방사성 요오드의 섭취율이 3배 이상 증가했다. 또한 potassium perchlorate 처리로 방사성 요오드의 섭취를 완전히 저해하였다. Adriamycin 처리후 Western blot 결과 방사성 요오드의 섭취와 세포내 p53 단백질의 발현 정도는 상관관계가 매우 높았다($r^2=0.922$). SK-Hep1-p53NIS 세포를 이식하여 종양이 형성된 마우스에 adriamycin을 처리한 결과 감마카메라 영상에서 처리 전보다 1.8배 높은 섭취를 나타내었다. **결론:** NIS 리포터 시스템을 이용하여 내인성 p53 유전자의 발현 정도를 in vitro 및 in vivo에서 측정할 수 있다.

14

종양으로 인한 신생혈관을 영상화 할 수 있는 Technetium-99m으로 표지된 Glucosamino-Asp-Lys-Arg-Gly-Asp-D-Phe 개발

인하대학교 화학과¹, 성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 핵의학과²

이병철^{1*}, 성현주¹, 송성희², 정경호², 최연성², 이경한², 지대윤¹

목적: 혈관신생 혈관 내피세포와 종양으로 인한 신생혈관 형성 시 특히 발현되는 v3 인테그린은 최근에 혈관신생 특이 추적자를 개발하는 표적으로 연구가 집중되고 있다. 이 연구에서는 v3 인테그린 결합제로 글루코스를 도입한 cyclicRGD에 영상진단을 위하여 구입이 용이하고 물리적 성질(141 keV, $t_{1/2}=6$ h)이 우수한 ^{99m}Tc으로 표지된 새로운 혈관신생 자극인자 방사성의약품을 개발하고자 하였다. **방법:** 표지 전구체는 tri-O-benzylglucosamino-[glycine-N-bis(methylbenzyl ester)]-Asp-Lys-Arg-Gly-Asp-D-Phe를 10% Pd/C를 사용하여 얻을 수 있었다. 체내 간 섭취 감소 및 blood clearance를 증진시키고자 glucosamino기를 도입하고, 기존의 ^{99m}Tc core 보다 크기가 작고 극성이 낮으며 체내에서 안정한 ^{99m}Tc(CO)₃를 core로 사용하여 glucosamino-(^{99m}Tc)DKRGDf를 합성하였다. 이 화합물을 HPLC (0-50% CH3CN/0.1% TFA in H₂O, 50 min)로 정제하고 PBS buffer 용액에 용해하였다. In vitro 실험으로 HUVE cells를 사용하여 기존에 알려진 cRGD[125I]yV와의 상대적 cell uptake binding과 glucosamino-(Re)DKRGDf와의 inhibition study를 진행하였다. **결과:** ^{99m}Tc으로 표지된 glucosamino-(^{99m}Tc)DKRGDf의 방사화학적 수율은 90-93%이었고 방사화학적 순도는 95% 이상, 총 합성시간은 120분이었다. HPLC 정제를 통해 얻어진 방사성 추적자와 Re coordination으로 얻은 cold 화합물과의 상대적 HPLC 머무름 시간의 차이는 각각 29.8 분과 30.9 분이었다. In vitro cell binding assay에서는 glucosamino-(^{99m}Tc)DKRGDf가 cRGD[125I]yV보다 약 1.8배 높게 섭취를 보였다. Inhibition study에선 10 M cold Glucosamino(Re)DKRGDf 존재 하에서 1시간 후에 기존 cell 섭취도가 37.3% 감소되었다. **결론:** Glucosamino-(^{99m}Tc)DKRGDf는 v3 수용체가 특이 발현된 혈관 내피세포에서 좋은 cell uptake binding과 specific binding을 나타냈다. 이와 같은 결과로 glucosamino-(^{99m}Tc)DKRGDf는 종양으로 인한 신생혈관 형성을 SPECT를 이용하여 영상화 할 수 있으리라 기대되어진다. 암 동물모델에서 혈관신생을 평가하는 연구가 현재 수행 중에 있다.