

Near-Infrared Fluorescent (NIRF) Imaging of Transferrin Receptor in Murine Infection and Tumor Model

전북대학교병원 핵의학과

김세림*, 김은미, 정환정, 손명희

목적: 감염부위의 염증세포와 종양조직에서는 transferrin 수용체가 과다 발현된다고 알려져 있다. Transferrin 수용체의 과다 발현을 이용하여 염증부위와 종양을 near-infrared optical imaging technique을 이용하여 영상화 하고자 하였다. **방법:** 사람 apo-transferrin을 borate buffer (0.2 M, pH 8.3)에 녹인 다음 Cy5.5-NHS를 dry DMSO에 녹여 천천히 transferrin 용액에 떨어 뜨려 실온에서 4시간 반응시켰다. 반응물은 PD-10 컬럼을 이용하여 HEPES 용액으로 분리하였다. transferrin을 holo 상태로 만들기 위하여 철을 섞어 -4℃에서 3시간 반응시켰다. 반응이 끝난 transferrin-Cy5.5는 -20℃에 보관하였다. Transferrin과 Cy5.5의 결합비율은 구입한 Cy5.5 instruction에서 제시하는 방법을 이용하여 측정하였다. Balb/c nude mice에 E. coli로 감염시켜 18시간 후 염증이 진행되고 있음을 육안으로 확인하고 H&E staining을 이용하여 염증을 진단하였다. Balb/c nude mice에 SNU-C5 (human colon cancer)를 inoculation 시켜 3주후 1 cm이상의 종양마우스를 얻었다. 감염과 종양 nude mice에 transferrin-Cy5.5 (0.3-0.5 mg)을 꼬리 정맥으로 주사하였다. Optical imager는 KODAK 4000MM을 이용하여 영상을 얻었다. 영상을 얻은 후 각각 염증부위와 종양부위의 조직을 얻어 western blotting을 시행하였다. **결과:** Transferrin과 Cy5.5는 1:1 비율로 결합하였다. 감염마우스의 경우 주사 후 15분 이후부터 염증부위의 섭취를 보여 3시간 까지 점차적으로 강한 섭취율을 보였다. 염증부위와 비염증부위의 intensity ratio를 측정한 결과 신장의 섭취를 기준으로 하면 염증부위의 섭취율은 0.5, 2, 3시간에 각각 1.4, 1.5, 2.2로 점차적으로 증가함을 보였다. 종양마우스의 경우 주사 후 0.15, 1, 2, 4, 24, 48시간에서 종양부위와 정상조직에서의 intensity ratio가 각각 1.5, 2.1, 2.5, 2.7, 3.8, 4.5로 점차적으로 증가함을 보였다. 염증조직의 western blotting한 결과 비염증부위의 발현정도에 비해 염증부위에서 transferrin 수용체가 현저하게 증가하는 것을 확인하였다. 종양 또한 같은 결과를 보였다. **결론:** 염증세포와 종양조직에서 발현이 증가되는 transferrin 수용체를 표적하기위해 transferrin-Cy5.5를 합성하였으며, 이를 이용하여 감염부위와 종양의 NIRF 영상을 성공적으로 얻을 수 있었다.

cRGDyK peptide-multidentate PEG의 합성 및 *in vitro* binding assay.

서울대학교 의과대학 핵의학교실¹, 인하대학교 화학과², 서울대학교 약학대학 제약학과³

이윤상*¹, 정재민¹, 홍미경¹, 장영수¹, 강원준¹, 감주현¹, 지대운², 서영거³, 이동수¹, 정준기¹, 이명철¹

목적: Cyclic RGD (Arg-Gly-Asp) peptide는 $\alpha\beta_3$ integrin에 높은 선택성과 친화도를 갖는 것으로 알려져 있으며, PEG를 붙였을 경우 체내 머무름 시간이 증가하는 것으로 알려져 있다. 이 연구에서는 PEG의 말단에 cRGDyK peptide의 수를 증가시키며 붙이고 $\alpha\beta_3$ integrin에 대한 친화도를 측정하였다. **방법:** 말단에 amino기를 갖는 di-, tetra-, hexa-armed PEG (M.W. 20K)에 cRGDyK를 붙이고, PD10 컬럼으로 분리하여 각각bis(cRGDyK)-PEG, tetrakis(cRGDyK)-PEG, hexakis(cRGDyK)-PEG를 합성하였다. PEGylation된 cRGDyK의 $\alpha\beta_3$ integrin에 대한 친화도를 125I로 표지한 cRGDyK와 경쟁 반응을 통하여 측정하였다. **결과:** ¹²⁵I-cRGDyK의 표지 효율은 92.8%였고, 방사화학적 순도는 99%였으며 비방사능은 2.17*10⁶ Ci/mol이었다. ¹²⁵I-cRGDyK의 Kd값은 1.013 nM이었다. cRGDyK, bis(cRGDyK)-PEG, tetrakis(cRGDyK)-PEG 와 hexakis(cRGDyK)-PEG의 Ki값은 각각 44.64, 873.5, 457.8, and 100.4 nM이었다. **결론:** Multidentate PEG에 cRGDyK peptide를 붙인 bis(cRGDyK)-PEG, tetrakis(cRGDyK)-PEG, hexakis(cRGDyK)-PEG을 합성하였다. PEG에 붙인 cRGDyK peptide의 숫자가 증가할 수록 $\alpha\beta_3$ integrin에 대한 친화도는 증가하였다.