

<https://doi.org/10.22643/JRMP.2018.4.2.106>

The radioligands with VEGF₁₂₁ for angiogenesis of tumor

Min Su Yim, Eun Kyoung Ryu*

DivisionProtein structure research Team, Division of Bioconvergence Analysis, Korea Basic Science Institute, 804-1 Ochang Chungbuk 363-883, University of Science and Technology, 217 Gajeong-ro Yuseong-gu Daejeon, 34113, Republic of Korea

ABSTRACT

Angiogenesis is the new blood vessel formation process and has known to a fundamental event of tumor growth and metastasis. Especially, vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptors (VEGFRs) are the crucial regulators of angiogenesis in tumor. VEGF-A is one of the VEGF family and binds to endothelial cell specific VEGFR1 and VEGFR2, which are associated with tumor growth and tumor angiogenesis. VEGF₁₂₁ is more tumorigenic isomer of VEGF-A. Targeted VEGF or VEGFR molecular imaging has been widely used to enable diagnosis and monitoring of proliferation and development of angiogenic tumors. Therefore, in this review, we have focused on the radioligands with VEGF₁₂₁ for angiogenesis of tumor.

Introduction

종양의 특징 중 하나인 비정상적인 신생혈관은 과도한 내피 세포의 증식과 혈관 구조의 형태를 변화시킴으로써 종양 세포의 전이와 증식을 야기한다(1, 2). 종양의 성장, 전이와 밀접한 관계가 있는 신생혈관형성은 최근 암 연구에 주로 집중되어 수많은 혈관 형성 억제제 연구개발을 불러일으켰다. Vascular endothelial growth factors (VEGFs)는 신생혈관 형성 과정 중에서 혈관 생성 및 혈관 관련 내피 세포 성장에 생리학적, 병리학적으로 관여하는 매우 중요한 인자로 알려져 있다(1, 3, 4). VEGF family에는 VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, placenta growth factor로 5 종류의 단백질이 존재한다. VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆는 VEGF-A의 대표적인 isoform으로, 그 중 VEGF₁₂₁은 VEGFR2와 높은 결합능력을 보이며 내피 세포의 증식 및 세포 이동에 관여한다(5-7). 또한 VEGF₁₂₁은 사람 유방암 세포를 이용하여 종양을 유발시킨 마우스 모델과 토끼 각

막 신생혈관 분석 실험을 통해 VEGF₁₆₅와 VEGF₁₈₉ 보다 종양형성과 신생혈관 생성에 더 많은 영향을 미친다는 것을 확인하였다(8). VEGFR1에 결합하는 리간드는 VEGF-A/B이며, VEGFR2에 결합하는 VEGFs는 VEGF-A/C/D이며, VEGFR3에 작용하는 VEGFs는 VEGF-C/D에 결합하여 내피 세포 성장, 전이, 사멸 억제 등의 작용을 통해 신생혈관형성, 신생림프관형성을 조절하는 중요한 역할을 한다(9-12). 이러한 수용체들은 다양한 종양에서 과발현 되어 있고 특히 VEGFR1과 VEGFR2는 종양의 성장과 혈관형성에 매우 밀접한 관련이 있다(12-14). 지난 20년 넘게 많은 연구팀에서 단일광자방출단층촬영(Single photon emission computed tomography, SPECT)(15-18), 양전자방출단층촬영(Positron emission tomography, PET)(19-21), 형광 이미지(15, 22), Magnetic resonance imaging (MRI)(23), 초음파(24, 25) 등과 같은 생체 영상 장비를 통해 VEGFR 과발현 종양을 비침습적으로 표적 하는 영상프로브를 개발하고자 하였다. 또한 VEGFs와 VEGFR을 표적 하는 것은 종

Received: December 10, 2018 / Revised: December 18, 2018 / Accepted: December 20, 2018

Corresponding Author : Eun Kyoung Ryu, Protein Structure Research Team, Division of Bioconvergence Analysis, Korea Basic Science Institute, 804-1 Ochang Chungbuk 363-883, University of Science and Technology, 217 Gajeong-ro Yuseong-gu Daejeon, 34113, Republic of Korea, Tel: 043-240-5091, E-mail: ekryu@kbsi.re.kr

Copyright©2018 The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

양 모니터링과 종양 억제제 개발에 매우 중요한 의미를 갖는다(26). 이 종설에서는 VEGF₁₂₁에 방사성동위원소를 결합하여 이를 PET 영상 장비를 통해 신생혈관형성에 따른 종양을 진단 및 종양 억제제에 평가에 수행된 방사성리간드들에 대해 알아보았다.

Current radioligands based on VEGF₁₂₁

⁶⁴Cu-DOTA-VEGF₁₂₁/rGel

교아종 종양은 외과적 수술, 항암화학치료, 방사선 치료의 발달에도 불구하고 현재까지도 좋지 않은 예후를 보이는 뇌종양이다(27). 교아종 종양은 VEGFR2와 VEGF-A에 의한 혈관 형성의 증가에 의해 종양 신생혈관형성이 유도된 대표적인 종양으로 알려져 있다(28). VEGFR1 (PAE/FLT-1)과 VEGFR2 (PAE/KDR)의 발현량은 정상적인 혈관 주변에서 변화가 없는 반면 종양 혈관 내피에서는 증가하기 때문에 혈관생성억제제 치료의 주요 표적이 된다(29). 특히 VEGFR2는 고형 종양에서 VEGF의 신생혈관형성을 주로 담당한다(30). 미국의 스탠포드 연구팀은 이전 연구에서 gelonin (rGel)과 VEGF isoform VEGF₁₂₁을 G₄S로 연결하여 84 kDa의 혈관 표적 용합 단백질 (VEGF₁₂₁/rGel)을 개발하였다(31). VEGF₁₂₁/rGel은 VEGFR2 (PAE/KDR)를 발현하는 내피(PAE) 세포에 매우 특이적이고 강한 세포 독성을 보였지만, VEGFR1 (PAE/FLT-1)에는 효과가 없었다(31). 또한 VEGF₁₂₁/rGel은 안구의 신생혈관형성을 억제하고 흑색종 전립선암, 유방암, 방광암 등의 종양동물모델에서 종양 성장을 감소시키는 것으로 나타났다(31-33). 종양에서는 VEGF-A와 신생혈관형성 수용체 발현 정도가 정상에 비해 크게 변화하였다. 따라서 본 연구팀은 VEGF₁₂₁/rGel을 이용한 종양 표적 영상 기술을 개발한다면 VEGF 및 VEGFR의 발현과 치료 효과를 모니터링하여 혈관억제 치료와 향후 임상 적용에 중요한 역할을 수행할 수 있을 것으로 생각했다. 이 논문의 저자들은 VEGF₁₂₁/rGel을 이용하여 교아종 종양 마우스 모델에서 종양 혈관 치료 효과 및 비침습적 영상을 평가하였다. 우선 양전자방출 방사성동위원소 ⁶⁴Cu과 배위결

합 할 수 있는 물질인 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-N,N',N'',N'''-tetraacetic acid (DOTA)를 결합하여 ⁶⁴Cu-DOTA-VEGF₁₂₁/rGel을 합성하고, 생체 영상 이미지를 얻기 위해 사람 교아종 종양세포, U87MG (1×10⁵개)를 주사하여 종양 동물모델을 만들어 사용하였다. ⁶⁴Cu-DOTA-VEGF₁₂₁/rGel (5~10 MBq)을 꼬리 정맥주사 하여 48 시간까지 관찰하였는데, 합성한 방사성리간드의 종양 섭취가 18 시간(11.8 ± 2.3 %ID/g)에서 가장 높은 정량값을 확인하였다. 또한 저자들은 ⁶⁴Cu-DOTA-VEGF₁₂₁/rGel와 VEGF₁₂₁ 200 μg을 같이 주사한 억제 실험에서 종양 섭취가 선택적으로 감소하는 결과를 획득함으로써, 방사성리간드의 종양 VEGFR에 대한 선택성 효과가 관찰되었다고 판단하였다. 이들은 in vivo에서 종양 진단 효과뿐만 아니라 치료 효과도 평가하기 위해 VEGF₁₂₁/rGel을 종양 동물 모델에 이틀에 한번씩 VEGF₁₂₁/rGel (1 mg/kg)를 1~4회 복강 주사하였고 12일 동안 관찰하여 이를 IVIS를 통한 형광, MRI, PET 영상을 획득하였다. VEGF₁₂₁/rGel 치료 전 대조군과 치료군의 종양의 크기는 MRI에서 각각 2.8 ± 0.8, 3.9 ± 0.7 mm³ 이었고, IVIS에서는 2.9 × 10⁷ ± 1.6 × 10⁷, 2.7 × 10⁷ ± 1.3 × 10⁷ photons/s로 거의 차이가 없었다. 그러나 12일 치료 후 하루에 2회씩 VEGF₁₂₁/rGel을 치료한 군에서는 대조군과 치료군의 종양의 크기가 MRI에서 각각 6.3 ± 2.0, 2.9 ± 0.6 mm³으로, IVIS에서는 7.0 × 10⁷ ± 2.3 × 10⁷, 3.7 × 10⁷ ± 1.2 × 10⁷ photons/s로 유의한 치료효과를 보였다. 특히 4회씩 치료한 군에서 가장 좋은 치료효과를 보였는데 IVIS결과에서 대조군에 비해 치료군의 종양의 정량값이 대략 8.7배 작아진 것을 보여 치료 횟수가 많을수록 치료효과도 증가하는 결과를 확인하였다. 또한 ¹⁸F-FLT를 주사하여 대조군과 4회씩 치료한 군을 비교한 PET 영상 결과에서도 주사 1시간 후 각각 2.9 ± 0.7, 1.7 ± 0.4 %ID/g으로 MRI, IVIS와 같은 양상의 결과를 보였다. 본 연구자들은 영상 촬영 후 종양 조직을 적출하여 VEGF₁₂₁/rGel의 신생혈관형성 억제 메커니즘을 규명하기 위하여, H&E, Ki67, TUNEL 등 조직 염색을 통한 조직학 실험을 수행하였다. 따라서, 본 연구팀은 ⁶⁴Cu로 표지된 VEGF₁₂₁을 이용하여 VEGFR을 표적하는 방사성리간드를 합성하였고, 동물모델에서 VEGFR이 과발현된 종양에 빠르

고 높은 ^{64}Cu -DOTA-VEGF₁₂₁/rGel 섭취를 보인 후, 간과 신장을 통한 신속한 배출을 한다는 결과를 확인하였다. 이 논문의 연구 결과를 통해 교아종 종양 모델에서 ^{64}Cu -DOTA-VEGF₁₂₁/rGel를 이용하여 종양 치료효과 검증 및 비침습적인 방법을 통해 종양 모니터링의 PET 적용 가능성을 입증하였다. ^{64}Cu -DOTA-VEGF₁₂₁/rGel를 이용한다면 VEGFR 과발현 종양의 모니터링, 치료뿐만 아니라 전이성 종양 형성을 방지하기 위해 사용할 수 있을 것으로 기대한다.

^{64}Cu -DOTA-VEGF₁₂₁

성균관대학 연구팀에서는 새로운 종양 억제제인 KR-31831의 평가를 위해 VEGF₁₂₁와 방사성 동위원소가 결합된 방사성리간드를 활용하였다(34). KR-31831 ((2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-chlorophenyl)-N-(1H-imidazol-2-ylmethyl)amino]-3-hydroxyl-2-methyl-2-dimethoxymethyl-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran)은 새롭게 개발된 신생혈관 억제제로서 세포의 증식, 침윤, 전이 등을 억제하며 또한 생체 내에서도 신생혈관 활성을 감소시킨다(35). 또한 KR-31831은 VEGFR2의 mRNA 발현도 억제하는 것으로 알려져 있다(35, 36). 본 연구팀은 KR-31831의 치료효과를 PET을 이용하여 확인하였다. 종양세포에 많이 발현되어 있는 VEGFR2를 표적하는 단백질 VEGF₁₂₁에 방사성금속원소 킬레이터인 DOTA와 방사성동위원소 ^{64}Cu 를 결합하여 방사성리간드인 ^{64}Cu -DOTA-VEGF₁₂₁를 합성하였다. 그 후 종양 세포 SKOV-3를 5×10^6 개 주사하여 고형 종양 동물모델을 만든 후 KR-31831 (50 mg/kg)를 28일 동안 복강 주사를 통해 치료효과를 관찰하였다. 28일 후, ^{64}Cu -DOTA-VEGF₁₂₁을 주사하여 KR-31831의 종양 억제 효과를 확인하였는데, micro PET 결과에서는 KR-31831을 처리한 실험군에서 1시간(4.03 ± 0.74 %ID/g), 2시간(4.37 ± 0.67 %ID/g), 16시간(3.83 ± 0.90 %ID/g)의 정량값이 관찰되었고, 대조군에서는 1시간(6.25 ± 1.18 %ID/g), 2시간(6.55 ± 0.69 %ID/g), 16시간(4.68 ± 0.63 %ID/g)의 종양 섭취를 보여 실험군이 대조군에 비해 낮은 값의 정량값을

확인하였다. PET 영상 촬영 후 종양 동물 모델의 장기를 적출하여 얻은 방사성리간드의 정량값에서도 실험군은 (3.11 ± 0.25 %ID/g) 대조군(3.74 ± 0.27 %ID/g)에 비해 낮은 값을 얻었다. 본 연구와 동일한 구조의 방사성리간드를 사용하여 연구를 수행한 스탠퍼드 대학 연구팀 결과에서는 사람 교아종 종양세포인 U87MG 세포를 이용하여 동물 모델을 만들어 실험하였는데, 동물 모델의 종양크기에 따라 종양에서의 ^{64}Cu -DOTA-VEGF₁₂₁ 섭취가 확연하게 다른 결과를 발표하였다(37). 즉, 작은 사이즈의 종양(64.9 ± 24.6 mm³)이 큰 사이즈(1164.3 ± 179.6 mm³)의 종양 보다 높은 VEGFR2 발현을 보이고, 종양 동물 모델에서의 방사성리간드의 섭취에도 큰 차이를 관찰하였다. 그러나 본 연구팀의 연구 결과는 스탠퍼드 대학 연구팀 연구 결과와는 상이한 결과를 얻었다. 본 연구팀에서는 SKOV-3 세포로 종양을 만들었을 경우, 큰 사이즈의 종양($319-365$ mm³)이 작은 사이즈의 종양(115 ± 25 mm³)보다 높은 섭취를 보였다(38-40). 이와 같은 이유를 저자들은 U87MG 세포와 SKOV-3 세포의 VEGFR 발현량 정도가 차이를 보이기 때문인 것으로 판단하였다. 이 논문에서는 신생혈관 억제제인 KR-31831을 평가 하기 위해 ^{64}Cu -DOTA-VEGF₁₂₁ 방사성리간드를 활용하였다. KR-31831의 치료 효과를 PET 영상을 통해 확인하였고, 방사성리간드인 ^{64}Cu -DOTA-VEGF₁₂₁가 VEGFR2가 과발현 되어 있는 종양을 선택적으로 표적 하였으며, 억제 실험을 통해 ^{64}Cu -DOTA-VEGF₁₂₁의 VEGFR2에 대한 특이성을 확인하였다. 따라서 본 연구의 결과를 통해 VEGF₁₂₁를 이용한 방사성리간드 ^{64}Cu -DOTA-VEGF₁₂₁가 종양 진단 및 KR-31831 약효를 평가할 수 있을 것으로 기대한다.

^{64}Cu -NOTA-K₃-VEGF₁₂₁

VEGF₁₂₁을 이용하여 VEGFR을 표적 하는 방사성리간드 개발 연구에서 VEGF₁₂₁에 표지 한 방사성 동위원소가 VEGFR binding site에 영향을 주어 결합을 방해하는 결과가 보고 되었다(41, 42). 또한 많은 연구 결과에서 VEGF₁₂₁을 이용한 방사성리간드들이 신장의 높은 섭취를 보이며, 낮

은 종양 특이성을 보이는 한계점이 있었다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 위스콘신 대학 연구팀에서는 VEGF₁₂₁과 VEGFR의 결합의 영향을 고려하여 VEGF₁₂₁의 N-말단 잔기에 lysine-tagged recombinant human VEGF₁₂₁ (K₃-VEGF₁₂₁)을 사용하였다. 논문의 저자들은 ⁶⁴Cu와 킬레이트 1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid (NOTA), K₃-VEGF₁₂₁을 결합하여 ⁶⁴Cu-NOTA-K₃-VEGF₁₂₁을 합성하였다. 쥐의 유방암 세포인 4T1을 사용하여 고형 종양 동물 모델을 만든 후 ⁶⁴Cu-NOTA-K₃-VEGF₁₂₁를 주사하여 PET 영상을 얻었다. PET 영상은 0.5시간(3.4 ± 0.5 %ID/g), 2시간(4.9 ± 1.0 %ID/g), 4시간(5.2 ± 1.0 %ID/g), 8시간(4.8 ± 0.8 %ID/g)에서 생체 내 변화를 관찰하였으며, 특히 방사성리간드 주사 후, 2시간부터 종양 표적에 대한 유의한 영상 확인이 가능하였다. 8시간 촬영 후 장기를 적출하여 정량값을 확인한 결과에서는 종양 대 근육의 비율이 5.9 ± 1.8로 PET 영상 이미지의 4.9 ± 1.0와 비슷한 것을 확인하였다. 일반 장기들의 방사성리간드의 방사선 섭취를 확인한 결과 간에서 높은 값(0.23 ± 0.022 mGy/MBq)을 관찰하였는데, 그 외 나머지 장기들에서는 낮은 값들을 관찰하였다. 이와 같은 결과를 통해 저자들은 이전의 ⁶⁴Cu-DOTA-VEGF₁₂₁ 연구(37)와 비교하였는데, 뇌, 위, 폐 자궁, 비장, 난소 등의 일반 장기 흡수율이 현저히 낮아진 것을 확인하였고, 특히 신장의 경우 이전 연구에서 1.05 ± 0.27 mGy/MBq의 값을 보였으나 본 연구에서는 0.2 ± 0.008 mGy/MBq로 매우 큰 차이를 확인한 결과를 강조하였다. 현재까지 PET을 이용한 VEGF₁₂₁ 연구에서 신장의 높은 방사성리간드 흡수로 비선택성이 높은 영상을 획득하는 한계점이 보였는데, 본 논문의 연구결과를 통해 ⁶⁴Cu-NOTA-K₃-VEGF₁₂₁가 이를 어느 정도는 극복할 수 있음을 보여주었다. 그러나 여전히 ⁶⁴Cu에 생산 및 구입에 대한 어려움과 다른 장기들에서는 흡수가 적지만, 방사성리간드의 주사 후 바로 간 대사경로를 거치기 때문에 간의 흡수가 높다는 점 등의 단점들을 문제점으로 제시하고 있다. 이러한 단점들에도 불구하고 ⁶⁴Cu-NOTA-K₃-VEGF₁₂₁는 상대적으로 다른 VEGF₁₂₁ 기반 방사성리간드에 비해 사이즈가 작고 정상 조직들의 피폭을 최소화 할 수 있으며, 우수한 종양 표적 능력 확인할 수 있는 결과라 생각한다.

VEGF₁₂₁-based dual PET/optical probe

생체 내 변화를 영상을 통해 확인하기 위해 분자 영상 장비들을 활용한 연구들이 활발하게 진행되고 있으며, 핵의학 분야에서도 PET/Computed Tomography (CT), SPECT/CT, PET/MRI 등 융합 장비를 활용한 다중 프로브 개발에 대한 관심이 높은 추세이다(43, 44). 그 중 가장 많이 활용되고 있는 나노파티클은 다양한 기능들을 실행할 수 있는 물리 화학적 특징을 가지고 있으나 이들 대부분은 금속, 규산염, 탄소, 양자점 등을 포함하기 때문에 세막내피계의 높은 흡수와 독성을 가지고 있다(45, 46). 성균관 대학 연구팀에서는 이와 같은 문제점을 해결하기 위해 streptavidin(SAV)/biotin(18) 복합체를 이용하여 융합 PET/광학 프로브를 합성 후 종양 마우스 모델에서 평가하였다(47). SAV과 biotin은 서로 높은 친화도를 보이며(48) 생체 내에서 상대적으로 순환 시간이 길며, 낮은 비특이적 결합을 보인다(49, 50). 이러한 특징 때문에 분자 영상 이미지 프로브 개발에 많이 이용되고 있다(22, 49, 51). 이 논문의 저자들은 형광 프로브인 Alexa Fluor 680 (AF)가 결합되어 있는 SAV에 DOTA를 합성하고 polyethylene glycol (52)가 결합된 biotin에 VEGF₁₂₁을 합성하였다. 그리고 두 복합체를 결합시킨 후, ⁶⁴Cu로 표지하여 융합 PET/광학 프로브인 ⁶⁴Cu-labeled dual 프로브를 합성하였다. 본 연구팀은 개발한 영상 프로브를 평가하기 위해 교아종 종양세포인 U87MG 세포를 2 × 10⁶ 개 주사하여 고형 종양 동물모델을 만든 후 ⁶⁴Cu-labeled dual 프로브를 꼬리 정맥 주사하였다. 주사 후 PET에서는 1시간(3.90 ± 0.17 %ID/g), 2시간(3.93 ± 0.46 %ID/g), 16시간(4.67 ± 0.81 %ID/g), 22시간(4.93 ± 0.80 %ID/g)에서 유의한 값을 확인하였고, 시간이 경과함에 따라 방사성리간드의 섭취가 증가하는 것으로 보고하였다. VEGF₁₂₁ 100µg을 같이 주사한 억제 실험에서는 1시간(3.20 ± 0.10 %ID/g), 2시간(3.37 ± 0.12 %ID/g), 16시간(3.60 ± 0.44 %ID/g), 22시간(3.73 ± 0.45 %ID/g)에서 방사성리간드의 섭취를 관찰하였고, 이는 대조군의 22시간 섭취 값과 비교해서 약 24% 감소한 값을 관찰하였다. 22시간동안 PET/형광 촬영 후, 종양 조직을 적출하여 정량값을 확인한 결과 PET에서는 4.19 ± 0.14 %ID/g,

형광에서는 $2.42 \pm 0.50 \times 10^7$ photons/s/cm²/sr의 정량값을 관찰하였고, 이는 영상 이미지 결과와 같은 양상을 보인다는 것 또한 확인하였다. 최근까지 VEGF₁₂₁를 이용하여 여러 가지 ¹²⁵I, ⁶⁸Ga, ⁶⁴Cu 등 방사성 동위원소를 결합하여 종양 및 질환을 진단하기 위한 연구들이 많이 발표되어 있지만 (53-57), 이러한 대부분의 프로브들은 단일 장비에서만 확인이 가능한 연구 결과들인데 반해, 본 연구팀의 결과는 종양에 대한 프로브의 결합력을 높이기 위해 SA_v/biotin 복합체를 이용하여 두 장비에서 동시에 확인이 가능하고자 시도한 연구였다. 1개의 SA_v에는 4개의 biotin이 결합하기 때문에 biotin-PEG-VEGF₁₂₁ 4개를 DOTA-AF-SA_v과 결합시켜 새로운 합성 영상 프로브를 만들고, 이를 PET/광학 영상 장비를 통해 프로브가 신생혈관이 과발현 된 종양 표면의 VEGFR에 높은 결합 능력을 보이는 결과를 확인한 연구 결과이다. SA_v/biotin 복합체를 이용한 다른 연구들에서도 종양의 높은 섭취를 보이는데(49, 51, 58), 한 예로, 매사추세츠 의대 연구팀의 프로브(¹¹¹In-DOTA-cyanine 5.5-SA_v/biotin-Her2 antibody) 결과에서는 높은 종양 섭취를 보고하였다(21 %ID/g at 40 시간)(59). ⁶⁴Cu-labeled dual 프로브는 VEGF₁₂₁에 방사성 동위원소만 붙인 방사성리간드들 보다는 사이즈가 커지는 단점이 있지만, PET과 형광에서 동시에 영상을 얻을 수 있고 SA_v/biotin 복합체의 결합력을 통해 종양 표적이 더 향상되는 장점이 있다. 본 연구의 결과를 통해 두 영상 장비의 민감도를 바탕으로 하여 프로브의 최적의 조건을 확립한다면 효과적인 질병 진단 프로브로 발전할 수 있을 것으로 기대한다.

Conclusion

VEGF₁₂₁에 방사성 동위원소를 결합하여 종양을 표적 하는 영상 및 종양 억제제를 평가한 방사성리간드들을 살펴보았다. 각각의 종양 세포를 바탕으로 한 동물 모델에서 방사성리간드들의 PET 영상 획득 시 최대 종양 섭취 정량값(%ID/g at postinjection time)을 표 1로 정리해 보았다. 여러 연구 결과들을 통해서도 알 수 있듯이 VEGF₁₂₁은 종양에 과발현 되

Table 1. VEGF₁₂₁기반 방사성리간드

방사성 리간드	⁶⁴ Cu-DOTA-VEGF ₁₂₁ /rGel	⁶⁴ Cu-DOTA-VEGF ₁₂₁	⁶⁴ Cu-NOTA-K ₃ -VEGF ₁₂₁	VEGF ₁₂₁ -based dual PET/optical probe
종양 세포	U87MG	SKOV-3	4T1	U87MG
PET 최대 종양 섭취 (%ID/g)	11.8±2.3 %ID/g at 18시간	6.55±0.69 %ID/g at 2시간	5.2±1.0 %ID/g at 4시간	4.93±0.80 %ID/g at 22시간

어 있는 VEGFR와 결합력이 매우 높기 때문에 많은 방사성리간드 개발에 대한 연구들이 활발하게 발표 되었고, 그 결과들 또한 매우 유의한 이미지와 정량값을 얻을 수 있었다. 그러나 VEGFR이 종양 세포에 대부분 과발현 되어 있지만, 일반 장기에도 적정량이 발현 되어 있기 때문에 이에 따른 정상 조직에서의 방사성리간드의 섭취도 감수해야 한다는 점과 이로 인해 원하는 부위의 정확한 전달이 어렵다는 단점도 있다. 본 중설의 VEGF₁₂₁ 기반 방사성리간드들도 다른 방사성리간드들과 마찬가지로 일반 장기들에서의 배출, 특히 간, 신장에서의 배출에 대한 한계점을 확인할 수 있었다. 그럼에도 불구하고 VEGF₁₂₁을 기반으로 한 방사성리간드들은 종양과의 높은 친밀도 및 선택성의 장점이 있기 때문에 추가적인 개선을 한다면 종양의 크기나 위치, 치료 단계 등의 정보를 제공할 수 있는 최적의 신생혈관형성에 따른 종양 표적 방사성리간드로 개발될 수 있다고 기대한다.

References

1. Ferrara N, Kerbel RS. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature* 2005;438(7070):967-974.
2. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100(1):57-70.
3. Ferrara N, Hillan KJ, Gerber HP, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody

- for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2004;3(5):391-400.
4. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9(6):669-676.
 5. Keyt BA, Berleau LT, Nguyen HV, Chen H, Heinsohn H, Vandlen R, Ferrara N. The carboxyl-terminal domain (111-165) of vascular endothelial growth factor is critical for its mitogenic potency. *J Biol Chem* 1996;271(13):7788-7795.
 6. Ma SH, Le HB, Jia BH, Wang ZX, Xiao ZW, Cheng XL, Mei W, Wu M, Hu ZG, Li YG. Peripheral pulmonary nodules: relationship between multi-slice spiral CT perfusion imaging and tumor angiogenesis and VEGF expression. *BMC Cancer* 2008;8:186.
 7. Wang H, Cai W, Chen K, Li ZB, Kashefi A, He L, Chen X. A new PET tracer specific for vascular endothelial growth factor receptor 2. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007;34(12):2001-2010.
 8. Zhang HT, Scott PA, Morbidelli L, Peak S, Moore J, Turley H, Harris AL, Ziche M, Bicknell R. The 121 amino acid isoform of vascular endothelial growth factor is more strongly tumorigenic than other splice variants in vivo. *Br J Cancer* 2000;83(1):63-68.
 9. Roskoski R, Jr. Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007;62(3):179-213.
 10. Sato Y, Kanno S, Oda N, Abe M, Ito M, Shitara K, Shibuya M. Properties of two VEGF receptors, Flt-1 and KDR, in signal transduction. *Ann NY Acad Sci* 2000;902:201-205; discussion 205-207.
 11. Takahashi Y, Kitadai Y, Bucana CD, Cleary KR, Ellis LM. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, correlates with vascularity, metastasis, and proliferation of human colon cancer. *Cancer Res* 1995;55(18):3964-3968.
 12. Underiner TL, Ruggeri B, Gingrich DE. Development of vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR) kinase inhibitors as anti-angiogenic agents in cancer therapy. *Curr Med Chem* 2004;11(6):731-745.
 13. Decaussin M, Sartelet H, Robert C, Moro D, Claraz C, Brambilla C, Brambilla E. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its two receptors (VEGF-R1-Flt1 and VEGF-R2-Flk1/KDR) in non-small cell lung carcinomas (NSCLCs): correlation with angiogenesis and survival. *J Pathol* 1999;188(4):369-377.
 14. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev* 2004;25(4):581-611.
 15. Backer MV, Levashova Z, Patel V, Jehning BT, Claffey K, Blankenberg FG, Backer JM. Molecular imaging of VEGF receptors in angiogenic vasculature with single-chain VEGF-based probes. *Nat Med* 2007;13(4):504-509.
 16. Blankenberg FG, Backer MV, Levashova Z, Patel V, Backer JM. In vivo tumor angiogenesis imaging with site-specific labeled ^{99m}Tc-HYNIC-VEGF. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2006;33(7):841-848.
 17. Chan C, Sandhu J, Guha A, Scollard DA, Wang J, Chen P, Bai K, Lee L, Reilly RM. A human transferrin-vascular endothelial growth factor (hTf-VEGF) fusion protein containing an integrated binding site for ¹¹¹In for imaging tumor angiogenesis. *J Nucl Med* 2005;46(10):1745-1752.
 18. Li S, Peck-Radosavljevic M, Kienast O, Preitfellner J, Havlik E, Schima W, Traub-Weidinger T, Graf S, Beheshti M, Schmid M, Angelberger P, Dudeczak R. Iodine-123-vascular endothelial growth factor-165 (¹²³I-VEGF165). Biodistribution, safety and radiation dosimetry in patients with pancreatic carcinoma. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2004;48(3):198-206.
 19. Eder M, Krivoshein AV, Backer M, Backer JM, Haberkorn U, Eisenhut M. ScVEGF-PEG-HBED-CC and scVEGF-PEG-NOTA conjugates: comparison of easy-to-label recombinant proteins for [⁶⁸Ga]PET imaging of VEGF receptors in angiogenic vasculature. *Nucl Med Biol* 2010;37(4):405-412.

20. Hsu AR, Cai W, Veeravagu A, Mohamedali KA, Chen K, Kim S, Vogel H, Hou LC, Tse V, Rosenblum MG, Chen X. Multimodality molecular imaging of glioblastoma growth inhibition with vasculature-targeting fusion toxin VEGF₁₂₁/rGel. *J Nucl Med* 2007;48(3):445-454.
21. Wang H, Gao H, Guo N, Niu G, Ma Y, Kiesewetter DO, Chen X. Site-Specific Labeling of scVEGF with Fluorine-18 for Positron Emission Tomography Imaging. *Theranostics* 2012;2(6):607-617.
22. Wang H, Chen K, Niu G, Chen X. Site-specifically biotinylated VEGF₁₂₁ for near-infrared fluorescence imaging of tumor angiogenesis. *Mol Pharm* 2009;6(1):285-294.
23. De Leon-Rodriguez LM, Lubag A, Udugamasooriya DG, Proneth B, Brekken RA, Sun X, Kodadek T, Dean Sherry A. MRI detection of VEGFR2 in vivo using a low molecular weight peptoid-(Gd)₈-dendron for targeting. *J Am Chem Soc* 2010;132(37):12829-12831.
24. Korpanty G, Carbon JG, Grayburn PA, Fleming JB, Brekken RA. Monitoring response to anticancer therapy by targeting microbubbles to tumor vasculature. *Clin Cancer Res* 2007;13(1):323-330.
25. Willmann JK, Paulmurugan R, Chen K, Gheysens O, Rodriguez-Porcel M, Lutz AM, Chen IY, Chen X, Gambhir SS. US imaging of tumor angiogenesis with microbubbles targeted to vascular endothelial growth factor receptor type 2 in mice. *Radiology* 2008;246(2):508-518.
26. Olsson AK, Dimberg A, Kreuger J, Claesson-Welsh L. VEGF receptor signalling - in control of vascular function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006;7(5):359-371.
27. Black PM. Brain tumors. Part 2. *N Engl J Med* 1991;324(22):1555-1564.
28. Fischer I, Gagner JP, Law M, Newcomb EW, Zagzag D. Angiogenesis in gliomas: biology and molecular pathophysiology. *Brain Pathol* 2005;15(4):297-310.
29. Senger DR, Van de Water L, Brown LF, Nagy JA, Yeo KT, Yeo TK, Berse B, Jackman RW, Dvorak AM, Dvorak HF. Vascular permeability factor (VPF, VEGF) in tumor biology. *Cancer Metastasis Rev* 1993;12(3-4):303-324.
30. Brekken RA, Overholser JP, Stastny VA, Waltenberger J, Minna JD, Thorpe PE. Selective inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor 2 (KDR/Flk-1) activity by a monoclonal anti-VEGF antibody blocks tumor growth in mice. *Cancer Res* 2000;60(18):5117-5124.
31. Veenendaal LM, Jin H, Ran S, Cheung L, Navone N, Marks JW, Waltenberger J, Thorpe P, Rosenblum MG. In vitro and in vivo studies of a VEGF₁₂₁/rGelolin chimeric fusion toxin targeting the neovasculature of solid tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99(12):7866-7871.
32. Akiyama H, Mohamedali KA, RL ES, Kachi S, Shen J, Hatara C, Umeda N, Hackett SF, Aslam S, Krause M, Lai H, Rosenblum MG, Campochiaro PA. Vascular targeting of ocular neovascularization with a vascular endothelial growth factor₁₂₁/gelonin chimeric protein. *Mol Pharmacol* 2005;68(6):1543-1550.
33. Ran S, Mohamedali KA, Luster TA, Thorpe PE, Rosenblum MG. The vascular-ablative agent VEGF₁₂₁/rGel inhibits pulmonary metastases of MDA-MB-231 breast tumors. *Neoplasia* 2005;7(5):486-496.
34. Lee I, Yoon KY, Kang CM, Lin X, Chen X, Kim JY, Kim SM, Ryu EK, Choe YS. Evaluation of the angiogenesis inhibitor KR-31831 in SKOV-3 tumor-bearing mice using ⁶⁴Cu-DOTA-VEGF₁₂₁ and microPET. *Nucl Med Biol* 2012;39(6):840-846.
35. Yi EY, Park SY, Song HS, Son MJ, Yi KY, Yoo SE, Kim YJ. KR-31831, a new synthetic anti-ischemic agent, inhibits in vivo and in vitro angiogenesis. *Exp Mol Med* 2006;38(5):502-508.
36. Park SY, Seo EH, Song HS, Jung SY, Lee YK, Yi KY, Yoo SE, Kim YJ. KR-31831, benzopyran derivative, inhibits VEGF-induced angiogenesis of HUVECs through suppressing KDR expression. *Int J Oncol* 2008;32(6):1311-1315.
37. Cai W, Chen K, Mohamedali KA, Cao Q, Gambhir SS, Rosenblum MG, Chen X. PET of vascular endothelial growth factor receptor expression. *J Nucl Med*

- 2006;47(12):2048-2056.
38. Boocock CA, Charnock-Jones DS, Sharkey AM, McLaren J, Barker PJ, Wright KA, Twentyman PR, Smith SK. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors flt and KDR in ovarian carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1995;87(7):506-516.
39. Sher I, Adham SA, Petrik J, Coomber BL. Autocrine VEGF-A/KDR loop protects epithelial ovarian carcinoma cells from anoikis. *Int J Cancer* 2009;124(3):553-561.
40. Wang FQ, Barfield E, Dutta S, Pua T, Fishman DA. VEGFR-2 silencing by small interference RNA (siRNA) suppresses LPA-induced epithelial ovarian cancer (EOC) invasion. *Gynecol Oncol* 2009;115(3):414-423.
41. Cai W, Chen X. Multimodality imaging of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor expression. *Front Biosci* 2007;12:4267-4279.
42. Cai W, Chen X. Multimodality molecular imaging of tumor angiogenesis. *J Nucl Med* 2008;49 Suppl 2:113S-128S.
43. Cherry SR. Multimodality in vivo imaging systems: twice the power or double the trouble? *Annu Rev Biomed Eng* 2006;8:35-62.
44. Louie A. Multimodality imaging probes: design and challenges. *Chem Rev* 2010;110(5):3146-3195.
45. de Barros AB, Tsourkas A, Saboury B, Cardoso VN, Alavi A. Emerging role of radiolabeled nanoparticles as an effective diagnostic technique. *EJNMMI Res* 2012;2(1):39.
46. Minchin RF, Martin DJ. Nanoparticles for molecular imaging-an overview. *Endocrinology* 2010;151(2):474-481.
47. Kang CM, Koo HJ, Lee KC, Choe YS, Choi JY, Lee KH, Kim BT. A vascular endothelial growth factor 121 (VEGF121)-based dual PET/optical probe for in vivo imaging of VEGF receptor expression. *Biomaterials* 2013;34(28):6839-6845.
48. Green NM. Avidin. *Adv Protein Chem* 1975;29:85-133.
49. Jung KH, Park JW, Paik JY, Quach CH, Choe YS, Lee KH. EGF receptor targeted tumor imaging with biotin-PEG-EGF linked to ^{99m}Tc-HYNIC labeled avidin and streptavidin. *Nucl Med Biol* 2012;39(8):1122-1127.
50. Rosebrough SF. Pharmacokinetics and biodistribution of radiolabeled avidin, streptavidin and biotin. *Nucl Med Biol* 1993;20(5):663-668.
51. Jung KH, Choe YS, Paik JY, Lee KH. ^{99m}Tc-Hydrazinonicotinamide epidermal growth factor-polyethylene glycol-quantum dot imaging allows quantification of breast cancer epidermal growth factor receptor expression and monitors receptor downregulation in response to cetuximab therapy. *J Nucl Med* 2011;52(9):1457-1464.
52. Deen DF, Chiarodo A, Grimm EA, Fike JR, Israel MA, Kun LE, Levin VA, Marton LJ, Packer RJ, Pegg AE, et al. Brain Tumor Working Group Report on the 9th International Conference on Brain Tumor Research and Therapy. Organ System Program, National Cancer Institute. *J Neurooncol* 1993;16(3):243-272.
53. Cai W, Guzman R, Hsu AR, Wang H, Chen K, Sun G, Gera A, Choi R, Bliss T, He L, Li ZB, Maag AL, Hori N, Zhao H, Moseley M, Steinberg GK, Chen X. Positron emission tomography imaging of poststroke angiogenesis. *Stroke* 2009;40(1):270-277.
54. Kang CM, Kim SM, Koo HJ, Yim MS, Lee KH, Ryu EK, Choe YS. In vivo characterization of ⁶⁸Ga-NOTA-VEGF121 for the imaging of VEGF receptor expression in U87MG tumor xenograft models. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2013;40(2):198-206.
55. Rodriguez-Porcel M, Cai W, Gheysens O, Willmann JK, Chen K, Wang H, Chen IY, He L, Wu JC, Li ZB, Mohamedali KA, Kim S, Rosenblum MG, Chen X, Gambhir SS. Imaging of VEGF receptor in a rat myocardial infarction model using PET. *J Nucl Med* 2008;49(4):667-673.
56. Willmann JK, Chen K, Wang H, Paulmurugan R, Rollins M, Cai W, Wang DS, Chen IY, Gheysens O, Rodriguez-Porcel M, Chen X, Gambhir SS. Monitoring of the biological response to murine hindlimb ischemia with

- ⁶⁴Cu-labeled vascular endothelial growth factor-121 positron emission tomography. *Circulation* 2008;117(7):915-922.
57. Yoshimoto M, Kinuya S, Kawashima A, Nishii R, Yokoyama K, Kawai K. Radioiodinated VEGF to image tumor angiogenesis in a LS180 tumor xenograft model. *Nucl Med Biol* 2006;33(8):963-969.
58. Jung KH, Park JW, Paik JY, Lee EJ, Choe YS, Lee KH. Hydrazinonicotinamide prolongs quantum dot circulation and reduces reticuloendothelial system clearance by suppressing opsonization and phagocyte engulfment. *Nanotechnology* 2012;23(49):495102.
59. Liang M, Liu X, Cheng D, Liu G, Dou S, Wang Y, Rusckowski M, Hnatowich DJ. Multimodality nuclear and fluorescence tumor imaging in mice using a streptavidin nanoparticle. *Bioconjug Chem* 2010;21(7):1385-1388.