

분자영상기술을 이용 식품의 기능성 탐색

Molecular Imaging Applications for Food

성미정 | 바이오제론연구단

Mi-Jeong Sung | Biogeron Food Technology Research Group

서론

미국의 MIT가 세상을 뒤바꿀 10대 기술의 하나로 선정한 분자영상(molecular imaging)은 최근 급속히 발전하고 있는 분야로써, 세포 내에서 일어나는 분자수준의 변화, 즉 유전자의 발현, 생화학적 현상, 생물학적인 변화들을 영상으로 평가하는 기법을 말하는 것으로 분자세포 생물학, 유전학, 물리학, 의학, 약학, 의공학, 핵의학 등과 첨단 영상 기술이 접목되어 만들어진 새로운 영역이다. 기존의 의학영상 기법과는 달리 분자수준, 유전자수준의 작용에서 나오는 영상신호를 이용하는 것으로, 생체조직을 손상하지 않고 반복적으로 영상화할 수 있는 것으로 소동물 실험 시 동물을 희생시키지 않고 반복적으로 진행사항을 영상화할 수 있다는 장점을 가지고 있다.

기존의 임상의학에서 사용하는 영상진단법은 엑스선, 초음파, 전산화단층촬영 등으로 환자의 질병을 진단하는데 사용하던 것으로 해부학적 형태

의 변화를 영상화하는데 주로 이용되었다. 그러나 분자영상기법을 사용하게 되면 질병초기에 생화학적, 분자유전학적인 변화를 관찰할 수 있으며 이로 인해 질병의 초기 진단과 질병의 근본적인 원인을 규명할 수 있게 된다. 또한 치료 중에 치료효과를 조기에 판정함으로써 환자 개인의 맞춤치료가 가능하게 될 것으로 여겨지며 각광을 받고 있는 분야이다. 따라서 소동물을 이용한 실험에 다양한 분자영상기법이 사용되고 있으며 이를 통해 질병을 예방 및 치료하는데 이바지하고 있다.

분자영상법의 종류 및 장단점

현재 소동물을 이용한 분자영상법은 다양하게 활용되고 있다(그림 1). 사용되고 있는 분자영상법은 크게 nonionizing radiation과 ionizing radiation으로 나눌 수 있다. Nonionizing radiation에는 광학적 영상화기법(optical imaging), 자기공명 영상

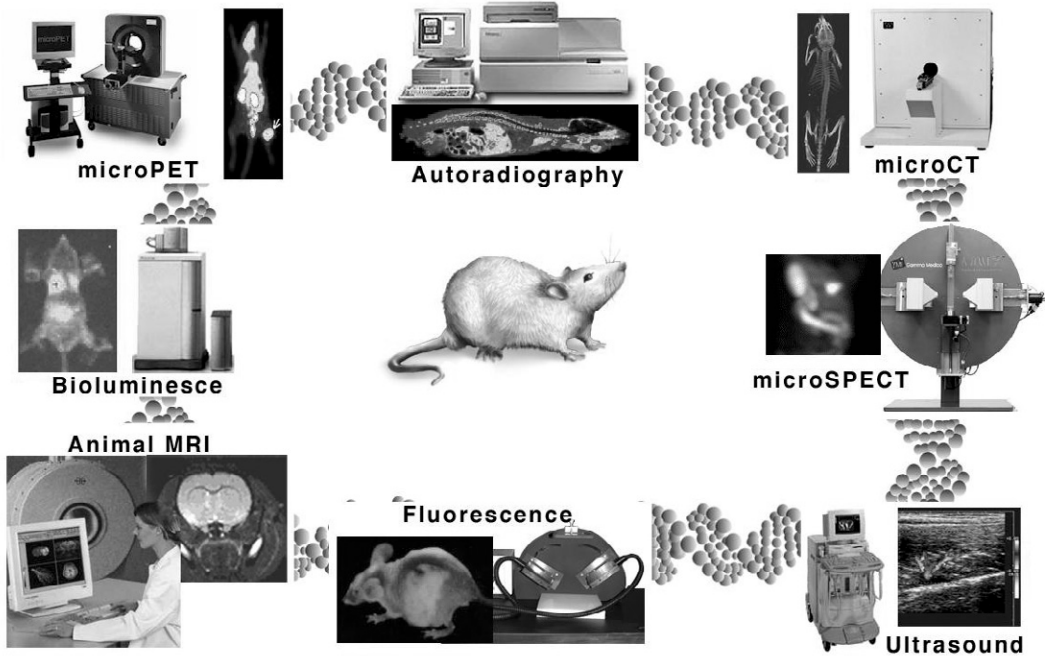


그림 1. 소동물 분자영상화에 이용되는 다양한 imaging modalities

법(magnetic resonance imaging), 초음파촬영 (ultrasound imaging) 등이 있다.

또한 ionizing radiation 방법으로는 PET(positron emission tomography)와 SPECT(single photon emission computed tomography), 컴퓨터단층촬영(computed tomography) 등이 있다. 이에 각각의 분자영상법의 장단점을 간단히 요약해 보았다 (표 1).

광학영상법

광학영상법은 세포생물학이나 분자생물학의 *in vitro* 또는 *ex vivo* 실험에서 이미 실행되고 있으며 형광현미경이나 luminometer가 그 예이다. 즉 소

동물에 이용되는 광학영상은 세포수준에서 실행되어 온 것을 *in vivo* imaging에 적용하여 영상화하는 방법으로 세포에 형광(fluorescent) 단백질을 표식하거나 특정효소를 사용하여 발광(bioluminescent) 시각화하여 소동물에서의 분자, 유전자의 발현을 영상화해주는 것이다. 그 중 형광 단백질을 이용하는 경우, 대표적인 것이 green fluorescent protein (GFP), red fluorescent protein(RFP), yellow fluorescent protein(YFP) 등이 있다. 이것은 GFP 등을 특정 유전자에 표식하여 세포 내 또는 생체 내에 삽입하여 형광현미경 또는 flow cytometer 등으로 영상화하여 관찰할 수 있다. 또한 발광영상은 화학적으로 생체 내에서 빛을 만들어 방출하고 영상화하는 방법으로 firefly luciferase(FL)나 renilla

표 1. 분자영상법의 비교

Method	Sensitivity	Resolution	Cost
CT	+	+++	++
MR	++	+++	+++
US	++	++	+
PET	+++	++	+++
SPECT	++	++	++
Fluorescence	+++	++	+
Luminescence	+++	++	++

Imaging technique	Portion of EM radiation spectrum used in image generation	Spatial resolution ^a			Temporal resolution ^b	Sensitivity ^c	Type of molecular probe ^d	Amount of molecular probe used
		Spatial resolution ^a	Depth	Temporal resolution ^b				
Positron emission tomography(PET)	high-energy γ rays	1-2 mm	no limit	10 sec to minutes	10^{-11} - 10^{-12} mole/L	Radiolabeled, direct or indirect	nanograms	
Single photon emission computed tomography(SPECT)	lower-energy γ rays	1-2 mm	no limit	minutes	10^{-10} - 10^{-11} mole/L	radiolabeled direct or indirect	nanograms	
Optical bioluminescence imaging	visible light	3-5 mm ^f	1-2 cm	seconds to minutes	not well-characterized possibly 10^{-15} - 10^{-17} mole/L	activatable indirect ⁱ	micrograms to milligrams	
Optical fluorescence imaging	visible light or near-infrared	2-3 mm ^g	<1 cm ^h	seconds to minutes	not well characterized, likely 10^{-9} - 10^{-12} mole/L	activatable, direct or indirect	micrograms to milligrams	
Magnetic resonance imaging(MRI)	radiowaves	25-100 μ m	no limit	minutes to hours	10^{-3} - 10^{-5} mole/L	activatable, direct or indirect	micrograms to milligrams	
Computed tomography(CT)	X-rays	50-200 μ m	no limit	minutes	not well characterized	may be possible(see text)	not applicable	
Ultrasound	high-frequency sound	50-500 μ m	millimeters to centimeters	seconds to minutes	not well characterized	limited activatable, direct	micrograms to milligrams	

Luciferase(RL)을 이용하는 것이 대표적이다.

Luciferase의 경우 hypersensitive cooled charge-coupled device(CCD) 카메라를 이용하여 마우스,

랫트와 같은 소동물의 영상을 얻을 시 표적/배후 대조도가 높고 세포에서 방출하는 빛의 양이 분자 변화나 세포 수와 비례하기 때문에 정량적인 분석

이 가능하다. 하지만 광학영상은 투과력이 좋지 않아 심층부를 영상화하기 어렵고, 신호의 산란이 많아 단층영상을 얻는 시에는 부적합하다.

방사선과적 영상기법

자기공명영상법(MRI)

MRI는 인체의 대부분을 차지하고 있는 물 성분 중 수소의 자기 모멘트 성분을 이용하여 주변 조직 상태에 따라 변화하는 물 분자의 자기공명학적 성질과 그 농도를 반영하는 자기공명신호 크기의 공간적 분포를 영상화한 것이다. 이것은 CT나 SPECT 처럼 방사선을 사용하지 않고 인체에 해가 없는 고주파를 이용하여 체내의 원자핵에 핵자기공명현상을 일으켜서 영상화하는 것이다. 주로 뇌, 간, 척수와 같은 인체의 연부조직을 관찰하는데 탁월한 기능을 한다. 또한 고해상도로 심층부까지 영상화가 가능하다는 장점이 있다. 그러나 이것은 비교적 긴 영상화시간, 조영제로 인한 세포독성, 상대적으로 낮은 예민도를 가지고 있어 cell tracking을 통한 영상 이미지화에는 한계점을 가지고 있다.

초음파영상(US)

1~10 MHz의 초음파를 생체 내에 입사시켜 조직의 경계면으로부터 되돌아오는 반사파를 이용하여 생체내부구조를 영상화하는 방법이다. 마우스와 같은 소동물 사용 시 40 MHz를 사용한다. 전형적으로 초음파는 관류(perfusion)와 해부학적인 특징을 관찰하는데 사용되는 것으로 초음파 사용 시 다양한 조영제가 투여된다. 그러나 조영제에 의한 세

포독성이 나타날 수 있다는 단점을 가지고 있다. 이러한 단점을 가지지만 초음파는 사용되는 지질 마이크로 버블을 사용하여 조영제에 특정 항체를 삽입하여 특정 질병의 타겟 조직으로 운반하여 치료하는데 사용될 수 있다. 그러므로 초음파는 마이크로 버블을 이용, 유전자 또는 치료제의 운반에 이용, 이를 영상화할 시에도 적용될 수 있다.

핵의학적 영상기법(Nuclear Imaging)

PET 그리고 SPECT

핵의학적 영상방법 기술은 특정 분자나 유전자에 작용하는 방사선 추적자를 방사선을 방출하는 방사성 동위원소에 표시하여 체내에 투여한 후 약물 자체의 특성에 따라 체내에서 다양한 대사과정을 거치면서 각 장기에서 체외로 방출되는 방사선을 영상화하는 것으로 표 2에서 보는 것처럼 다양한 분야에 적용할 수 있다.

표 2. 분자 핵 영상법의 적용 분야

Genomics	: HSV1-tk, D2R, NIS gene
Proteomics	
Receptor	: In-111 octreotide
Antigen	: In-111 antiCEA antibody
Metabolism	
Glucose	: F-18 FDG
Amino acid	: C-11 methionine
Nucleic acid	: F-18 fluorothymidine
Fatty acid	: C-11 palmitate
Cellular biologic process	
Differentiation	: I-123, I-131
Specific function	: Tc-99m MIBI, neuroreceptor ligand
Apoptosis	: Tc-99m annexin V
Angiogenesis	: I-123 RGD peptide

핵의학적 영상방법에는 단일광자를 영상화하는 경우, 단일광자방출촬영장치(single photon emission computed tomography, SPECT), 양전자를 이용하는 경우를 양전자방출단층촬영장치(positron emission tomography, PET)로 나눌 수 있다.

PET는 생체 내에 양전자를 방출하는 방사성 의약품을 주입한 후 이물질의 체내분포를 영상화하는 방법으로 여러 가지 생리적, 병리적 기본이 되는 생체 내 생화학적 현상을 영상화하는 것으로 CT나 MRI가 형태학적인 영상인 것에 반해 PET는 기능영상으로 구별된다. 핵의학을 이용한 영상에서 가장 활발히 연구되고 있는 방법은 우리가 알고자 하는 유전자의 발현을 검출할 수 있는 물질을 생성하는 유전자에 방사성을 표지하여 나타내는 리포터 유전자(reporter gene)를 이용하여 영상화하는 것이다.

PET용 방사성 동위원소는 생물학적 구성성분인 불소(F-18), 탄소(C-11), 산소(O-15), 질소(N-13) 등으로 화학적 성질의 변화없이 체내성분대사, 약물대사, 수용체대사의 영상화에 이용된다. PET는 herpes simplex virus 1형의 thymidine kinase (HSV1-TK)의 유전자를 특정 세포 내에 이입시킨 후 이에 특이하게 작용하는 방사성 표지 화합물(I-124 FIAU penciclovir, F-18)을 투여하면 유전자의 발현위치, 발현정도, 발현기간을 평가할 수 있으며 리포터 유전자를 발현하는 세포를 생체 내에 이입 시 세포추적, 세포치료의 모니터링을 가능하게 한다. 그러나 이러한 PET를 이용한 분자영상화 기법은 고가의 장비, 복잡한 방사성 의약품의 합성 등이 필요하다는 단점이 있다. 최근 이를 보완하기 위해 널리 이용되고 있는 SPECT에 비교적 안전한 sodium iodide symporter(NIS)를 투여하여 유전자 치료에 이용하고 있다.

컴퓨터단층촬영장치(CT)

컴퓨터단층촬영장치는 X선을 이용하여, 다양한 각도에서 X선을 투사해 그것이 인체를 통과하면서 감소되는 양을 전기적 신호의 형태로 측정하는 기술로 대상조직의 밀도를 결정하고, 내부구조의 자세한 단면을 재구성해 준다. 근육과 연부조직의 구분이 잘 되며 장기구조를 잘 관찰할 수 있고 다양한 각도에서 영상을 얻을 수 있지만 조영제의 사용에 의해 부작용을 가질 수 있다.

분자영상법의 적용분야

유전자 치료

세포 내에 새로운 단백질이 발현되도록 제조한 플라스미드를 도입하여 병을 치료하는 것을 유전자 치료라 한다. 이러한 유전자 치료 시 가장 어려운 것 중에 하나는 전달하고자 하는 기관에 치료 유전자의 전달, 발현, 지속시간이 어떠한지를 생체 내에서 확인하는 것이다. 이에 분자영상기술을 도입하여 유전자 전달 효율을 정량적으로 영상화할 수 있게 되었으며 이를 위해 리포터 유전자가 일반적으로 가장 널리 사용되어지고 있다.

핵의학영상에서는 리포터 유전자로 HSV1-TK를 이용한다. 이것은 ganciclovir의 인산화를 막아 DNA 합성을 막는 것으로 HSV1-TK 유전자가 발현하고 있는지를 요오드 화합물인 FIAU를 프로브로 사용하여 영상화한다. SPECT를 이용하여 sodium iodide symporter(NIS)에 의하여 방사성 요오드의 흡수를 관찰하는 방법도 최근 활발히 연구되고 있다.

MR 영상은 최근 transferrin 유전자를 리포터 유전자로 하여 연구개발 중이다. 또한 유전자 전달은 GFP 및 luciferase 유전자를 이용하여 쉽게 광학영상으로 나타낼 수 있다. 이것은 방사성 물질을 다루지 않는다는 점, 저렴한 가격, 정량의 용이함 등의 장점이 있다.

세포추적영상(Cell Tracking)

세포를 체외에서 표지하여 체내 투여하면 전이, 줄기세포이식, 림프구의 반응 등 세포의 이동을 추적하여 영상화할 수 있다. FDG는 염증세포에도 잘 섭취되므로 단핵세포의 체내이동을 추적할 수 있다. 또한 HSV1-TK 리포터 유전자를 주입한 T림프구를 투여하여 항암반응을 PET로 영상화할 수 있다. 이 방법으로 세포의 이동경로와 생존정도를 평가함으로써 항암이나 면역치료에 사용될 수 있다.

줄기세포(stem cell)를 질환모델 체내로 주입한 후 줄기세포의 추적영상을 얻는 시도가 활발히 진행되고 있다. 심장허혈 동물모델에 HSV1-TK 유전자로 표지한 심장근육모세포(embryonic cardiomyoblast)를 주입한 후 살아있는 상태에서 PET 또는 MR 영상으로 추적할 수 있다.

항체영상

항체영상은 감마카메라나 SPECT를 이용하여 많은 시도가 있었으나 영상의 질이 낮아 실제 임상에서는 쓰이지 않는다. 이는 온전한 항체의 경우, 혈중에 오래 남아 있어 배후 방사능이 높기 때문이다. UCLA에서 광학 리포터인 luciferase를 두 개의 조각(Nfluc, Cfluc)으로 나누어 발현시킨 결과

luciferase의 활성이 나타나지 않았다. 하지만 서로 상호작용하는 것으로 알려진 ID와 MyoD라는 단백질에 각 조각을 연결시킨 상태로 발현시킨 경우(Nfluc-ID, Cfluc-MyoD)로 서로 단백질이 상호작용하여 활성을 나타내 영상을 얻을 수 있다.

약제 개발

약제 개발은 많은 시간과 돈이 드는 일이다. 지금까지 전 임상시험으로는 H-3나 C-14과 같은 동위원소를 이용하여 동물의 조직을 채취하여 생체 분포(biodistribution)를 보거나 약효를 평가하였다. PET는 약의 분포, 배설, 동태(pharmacokinetics) 뿐만 아니라 효과까지 평가할 수 있어 새로운 약의 개발에 돈과 시간을 절약할 수 있게 한다. 방사성 표지가 된 항암제, 도파민 수용체나 에스트로젠 수용체 등 수용체 영상, F-18 PEGylated RGD(Arg-Gly-Asp) peptide와 같은 혈관생성(angiogenesis) 영상 등 새로운 방사성 의약품을 이용한 연구도 활발하나 이미 임상에서 많이 사용되는 F-18 FDG microPET를 이용하여 새로운 항암제의 효과를 평가하는 방법도 활발하다. FDG를 이용한 약제 평가는 동물에서 뿐만 아니라 임상시험으로 이어질 수 있다는 장점이 있다(그림 2).

결론

분자영상법을 이용함으로써 세포의 근원적 현상, 병리의 이해를 통해 질병에 대한 이해도가 증가하며 이를 통해 중앙, 뇌신경질환, 면역질환 등 많은 난치성 질병의 조기 진단에 이용 가능할 것이

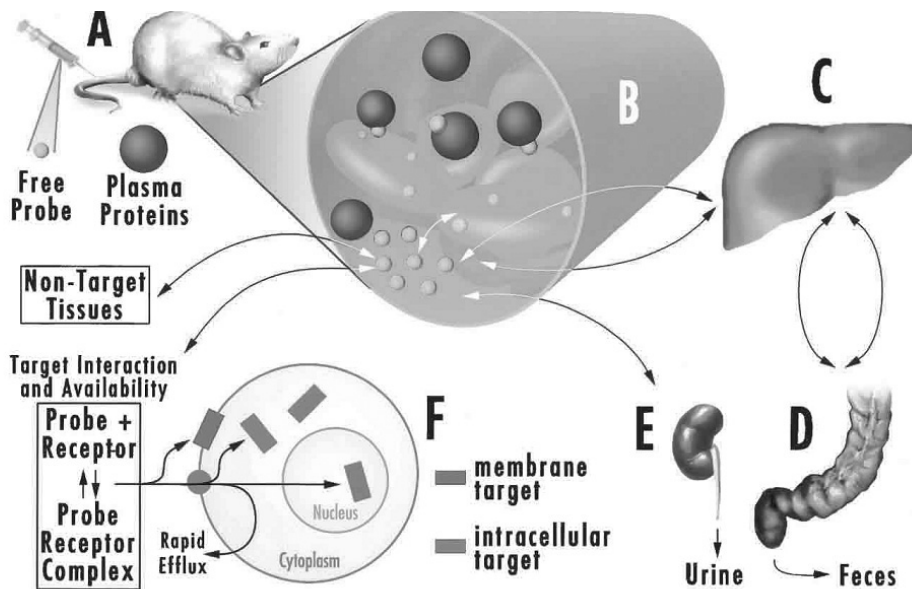


그림 2. 분자영상을 이용한 약제 개발

다. 또한 이것은 식품소재의 기능성을 탐색하는 데에도 효과적일 것으로 예상된다. 식품의 섭취 후 특정 분자, 유전자, 신호전달 체계에 작용하는 것을 추적할 수 있으며 이것은 맞춤형 식단, 신약개발에 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

● 참고문헌 ●

- Hildebrandt IJ, Gambhir SS, Molecular imaging applications for immunology, *Clin Immunol*, 111, 210-24, 2004
- Massoud TF, Gambhir SS, Molecular imaging in living subjects : seeing fundamental biological processes in a new light, *Genes Dev*, 17, 545-580, 2003
- Lindner JR, Evolving applications for contrast ultrasound, *Am J Cardiol*, 10A, 72J-80J, 2002
- Rudin M, Beckmann N, Porszasz R, Reese T, Bochelen D, Sauter A, In vivo magnetic resonance methods in pharmaceutical research : current status and perspectives, *NMR Biomed*, 12, 69-97, 1999
- Gambhir SS, Molecular imaging of cancer with positron emission tomography, *Nat Rev Cancer*, 2, 683-693, 2002
- Wickline SA, Lanza GM, Nanotechnology for molecular imaging and targeted therapy, *Circulation*, 102, 1092-1095, 2003
- Yang M, Baranov E, Moossa AR, Penman S, Hoffman RM, Visualizing gene expression by whole-body fluorescence imaging, *Proc Natl*

- Acad Sci U. S. A, **97**, 12278-12282, 2000
8. Contag PR, Olomu IN, Stevenson DK, Contag CH, Bioluminescent indicators in living mammals, *Nat Med*, **4**, 245-247, 1998
 9. Zhang J, Campbell RE, Ting AY, Tsien RY, Creating new fluorescent probes for cell biology, *Nat Rev Mol Cell Biol*, **3**, 906-918, 2002
 10. Rice BW, Cable MD, Nelson MB, In vivo imaging of light-emitting probes, *J Biomed Opt*, **6**, 432-440, 2001
 11. Honigman A, Zeira E, Ohana P, Abramovitz R, Tavor E, Bar I, Zilberman Y, Rabinovsky R, Gazit D, Joseph A, Panet A, Shai E, Palmon A, Laster M, Galun E, Imaging transgene expression in live animals, *Mol Ther*, **4**, 239-249, 2001
 12. Billinton N, Knight AW, Seeing the wood through the trees : a review of techniques for distinguishing green fluorescent protein from endogenous autofluorescence, *Anal Biochem*, **291**, 175-197, 2001
 13. Ntziachristos V, Tung CH, Bremer C, Weissleder R, Fluorescence molecular tomography resolves protease activity in vivo, *Nat Med*, **8**, 757-760, 2002
 14. Sevcik-Muraca EM, Houston JP, Gurfinkel M, Fluorescence-enhanced, near infrared diagnostic imaging with contrast agents, *Curr Opin Chem Biol*, **6**, 642-650, 2002
 15. Bremer C, Tung CH, Bogdanov A, Jr. and Weissleder R, Imaging of differential protease expression in breast cancers for detection of aggressive tumor phenotypes, *Radiology*, **222**, 814-818, 2002

성 미 정 의학박사

소 속 : 한국식품연구원 바이오제론연구단

전문분야 : 기능성식품의 생리활성 및 효능, 항염증
기전연구

E-mail : dulle5@kfri.re.kr

T E L : 031-780-9316