

<https://doi.org/10.22643/JRMP.2022.8.2.129>

Bombesin-based Radiopharmaceuticals for Imaging and Therapy of Cancers Expressing Gastrin-releasing Peptide Receptor

Hwi-Soo Lim and Choong Mo Kang*

Division of Applied RI, Korea Institute of Radiological & Medical Sciences, Seoul, Republic of Korea
Radiological and Medico-Oncological Sciences, University of Science and Technology, Seoul, Republic of Korea

ABSTRACT

Bombesin has a high binding affinity to gastrin-releasing peptide receptor (GRPR) and can be used as a targeting ligand in GRPR-related cancers. Because GRPR is overexpressed in prostate cancer, bombesin analogues have been investigated extensively for diagnosis and treatment of prostate cancer. In nuclear medicine, bombesin derivatives labeled with radiometals such as $^{55/57}\text{Co}$, ^{64}Cu , ^{68}Ga , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, and ^{177}Lu or radiohalogen such as ^{131}I and ^{211}At were developed as markers for early detection of tumors and theragnostic tool for cancer treatment. This review focuses on the introduction of bombesin-based radiopharmaceuticals that are studied in pre-clinical or clinical research.

Key Word : Bombesin, GRPR, Prostate cancer, Peptide-based radiopharmaceuticals

Introduction

Bombesin(BBN)은 원래 양서류 피부에서 정제된 14개의 아미노산 펩타이드(Pyr-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂)로 인슐린 분비를 돕거나 근육 수축을 용이하게 하는 등의 다양한 기능을 하는 펩타이드로 알려져 있다(1). 특히 BBN은 BBN 수용체 패밀리에 강하게 결합하는 특징을 가지고 있다. 수용체 패밀리는 뉴로메딘 B 수용체인 BB1, 가스트린 방출 펩타이드 수용체 (gastrin-releasing peptide receptor, GRPR)인 BB2, 희귀수용체 subtype

인 BB3, 양서류 수용체 BB4로 이루어져 있다(2-6). BB2인 GRPR은 G단백질 연결 수용체로 전립선암, 유방암, 소세포폐암 등의 암세포에서 과 발현하는 것으로 알려져 있으며, 특히 전립선 암이나 유방암에서 많이 발현되는 것으로 밝혀졌다(1). 따라서 BBN 펩타이드 유도체는 GRPR이 과 발현하는 암세포의 수용체에 결합하여 진단 및 치료용 방사성의약품으로 사용될 수 있다. GRPR의 표적 치료를 위해 높은 친화력을 가진 BBN 길항제 합성, BBN 유도체의 세포 독성실험, 펩타이드-보결분자 컨주게이트 개발, 다양한 방사성동위원소의 표지실험 등이 연구되고 있으며, 진단용 방사성 동위원소(^{60}Co , ^{64}Cu ,

Received : November 25, 2022 / Revised : December 07, 2022 / Accepted : December 08, 2022

Corresponding Author : Choong Mo Kang, RI Translational Research Team, Division of Applied RI, Korea Institute of Radiological and Medical Sciences, 75 Nowon-ro, Nowon-gu, Seoul 01812, Korea, Tel : +82-2-970-1628. Fax : +82-2-970-1986. E-mail : ck190@kiram.re.kr

Copyright©2022 The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

⁶⁸Ga, ^{99m}Tc 등)를 이용해 진단을 하고, 베타나 알파입자를 방출하는 동위원소(¹⁷⁷Lu, ²¹¹At 등)의 표지를 통해 암세포의 치료가 가능하다. BBN 기반 방사성의약품은 금속성 방사성동위원소-표지 BBN 유도체와 할로젠족 방사성동위원소-표지 BBN 유도체로 나눌 수 있다. 방사성금속을 BBN에 표지하기 위해 사용하는 킬레이터는 2,2',2''- (1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triyl)triacetic acid (NOTA), 1,4,7-triazacyclononane,1-glutaric acid-4,7-acetic acid (NODAGA), 2,2',2'',2'''- (1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetrayl)tetraacetic acid (DOTA), 2-(1,4,7,10-tetraazacyclododecane,1-(glutaric acid)-4,7,10-triacetic acid (DOTAGA) 등이 있다. 킬레이터-BBN 컨주게이트를 합성 후 금속성 방사성동위원소를 표지하여 방사성의약품 제조가 가능하다. 할로젠족 방사성동위원소를 사용하는 방사성의약품은 BBN 유도체에 킬레이터 대신 할로젠족 방사성동위원소를 표지 가능한 보결분자를 사용해 합성이 가능하다. 본 종설에서는 방사성동위원소를 기준으로 분류한 BBN-기반 방사성 의약품의 전임상, 임상 연구 내용을 정리하였다.

Radiometal-labeled BBN analogues

[^{55/57}Co]Co-NOTA-PEG₂-RM26

GRPR의 길항제인 BBN유도체를 이용한 방사성리간드는 종양세포에서 빠르고 효과적으로 작용한다고 임상연구를 통해 보고되었다(7). 금속성 방사성동위원소를 표지한 방사성리간드는 킬레이터의 카복실산으로 인해 세포 내부로 들어간 방사성리간드가 다시 배출되지 않고 세포 내에 머물게 되어 종양 영상에 유리하다(8). 대학 연구팀은 BBN유도체 RM26(DPhe -Gln- Trp-Ala-Val-Gly-His-Sta-Leu-NH₂)에 NOTA 킬레이터와 PEG₂ spacer를 도입한 NOTA-PEG₂-RM26를 합성하여 ^{55/57}Co를 표지 하였다(9). PC-3 인간 전립선 암세포에서 결합 특이성을 통해 [^{55/57}Co]Co-NOTA-PEG₂-RM26이 세포막에 특히 높은 결합을 보였지만 기존의 ¹¹¹In-RM26보다 3배 낮은 세포 내재화를 보였다. 이는 Co-NOTA와 방사성이화대사물의 낮은 잔류성 특성 때문으로 판단된다.

PC-3 종양세포 이식 마우스의 PET/CT 영상을 얻기 위해 ⁵⁵Co를 표지 후 확인하였고 ⁵⁷Co를 표지하여 SPECT/CT와 체내분포 결과를 확인하였다. ⁵⁵Co-NOTA-PEG₂-RM26는 낮은 혈액 내 섭취와 정상 장기에서 빠르게 표지화합물이 배출되는 것을 확인할 수 있었다. 신장에는 6.00 ± 2.00% ID/g, 간에서는 0.65 ± 0.05% ID/g 로 낮은 섭취량을 보여주었다. 또한 췌장, 소장, 위에서는 높은 섭취량을 보이지만, blocking을 위해 ⁵⁷Co-NOTA-PEG₂-RM26을 과량의 펩타이드와 함께 주사했을 때 종양에서 6배 이상 방사능 섭취 감소를 확인할 수 있어 PC-3 세포에 특이적으로 결합한다는 것을 알 수 있었다. ⁵⁷Co-NOTA-PEG₂-RM26의 종양 섭취율은 ¹¹¹In, ⁶⁸Ga, ¹⁸F을 표지한 화합물과 비슷한 결과를 나타내는 것으로 확인할 수 있다. GRPR이 과 발현된 종양을 이식한 동물모델에서 PET/CT 영상을 얻었을 때 체내분포와 마찬가지로 종양의 섭취가 월등히 높은 것을 확인할 수 있다. 또한 3시간과 24시간에서 신장과 방광에서도 높은 섭취율을 보였는데 이것은 방사성리간드가 신장을 통해 소변으로 배출되는 것으로 알 수 있다. 이를 통해 ^{55/57}Co-NOTA-PEG₂-RM26은 GRPR PET/CT 영상을 얻는데 유용한 프로브인 것을 확인할 수 있다.

⁶⁴Cu-labeled DOTA-linker-BBN(7-14) analogues

기존에는 전체 길이의 BBN 펩타이드를 사용하거나 C-말단 아미노산을 사용하여 평가하였던 반면, 이 연구에서는 BBN(7-14) C-말단 아미노산에 DOTA를 결합하여 ⁶⁴Cu 표지 후 GRPR의 PET영상을 얻을 수 있었다(10, 11). 이 물질은 BBN(7-14)과 DOTA 사이에 아미노산 링커를 도입하여 섭취가 높았던 간담도에서 빠르게 배출되도록 하였다. 링커는 glycine (G), serine (S), glutamic acid (E)를 연결한 GGG, GSG, GSS, GEG, GEE의 조합을 사용하였다(Figure 1). 설계한 [⁶⁴Cu]-Cu-DOTA-BBN(7-14) 유도체 들의 방사능 섭취 정도를 평가했을 때, 친수성이거나 음전하를 가지는 아미노산을 링커를 사용한 유도체들이 간이나 신장의 섭취가 줄어드는 것을 확인할 수 있었다. 즉, 친수성을 가지는 serine 은 결사슬에 hydroxyl group을 가지고 있고, glutamic acid의 결사슬은 pK_a값이 4.07으로 탈양성자화 되어

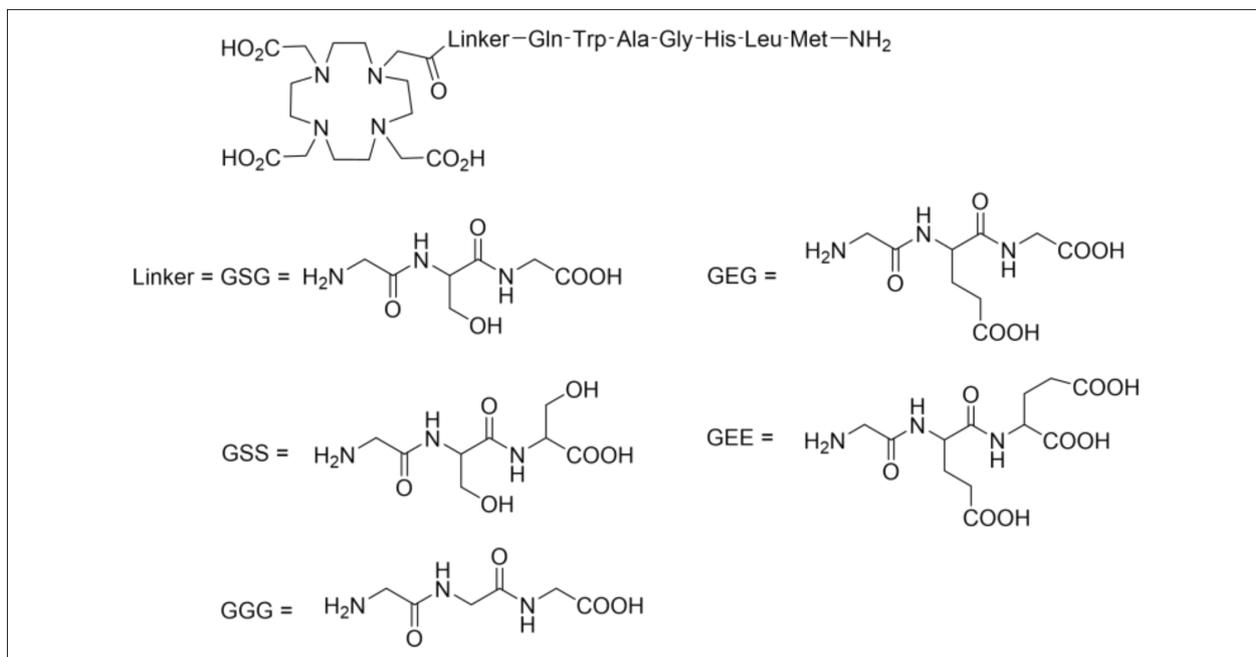


Figure 1. Structures and amino acid sequences of DOTA-linker-BBN(7-14) peptides.

음전하가 된다. 각각의 링커를 결합 후 평가해 보았을 때, 음전하를 띤 glutamic acid 잔기의 사용이 GRPR-발현 세포로의 내재화될 뿐만 아니라 정상장기의 섭취를 크게 감소시킨다는 것을 알 수 있었다. 즉 GGG 링커는 간에서 섭취가 5.80% ID/g, 신장에서 섭취가 7.90% ID/g 이었지만, SSS를 주사했을 때 각각 2.10%와 2.70% 로 줄어드는 것을 확인하였다. 이 결과를 바탕으로 아미노산의 염기 서열을 바꿨을 때 정상 장기 섭취에서 높은 효과를 보이는 것을 알 수 있다. 또한 링커를 사용하지 않고, 아미노산 서열을 바꾸지 않은 ⁶⁴Cu-표지 DOTA-BBN 유도체보다 체내분포와 *in vivo* 영상에서 종양의 특이적 섭취가 비교적 높음을 확인할 수 있었다. 하지만 많은 링커와 킬레이터를 사용할 때 역동학적 불활성화가 일어나기 때문에 추가 연구가 필요하다.

⁶⁴Cu-labeled NODAGA-galacto-BBN

본 연구는 전립선암에서 과 발현되는 GRPR의 양성 종양을 표적하는 BBN(7-14) 유도체 기반 방사성리간드인 ⁶⁴Cu-표지 NODAGA-galacto-BBN(7-14)을 합

성하였다(12) (Figure 2). BBN에 galactose를 결합한 galacto-BBN을 합성해서 간의 섭취를 줄이고 종양 섭취는 증가시켰다. [⁶⁴Cu]Cu-NODAGA-galacto-BBN과 [⁶⁴Cu]Cu-NODAGA-BBN을 비교 하였을 때 평균 혈중 방사능 농도 대 시간 곡선이 4시간에 6배 차이 나는 것을 확인할 수 있었다. 또한 0시간으로 추정된 혈중 방사능 농도 C₀ (% ID/ml)는 [⁶⁴Cu]Cu-NODAGA-galacto-BBN은 16.2 ± 1.48, [⁶⁴Cu]Cu-NODAGA-BBN가 15.80 ± 1.74% ID/ml이었으며, terminal elimination 반감기 (T_{1/2z})는 29.2 ± 20.61, 70.7 ± 43.71 h로 전자가 혈액 순환이 더 빠르게 진행 된다는 것을 알 수 있다. 또한 PET 영상과 체내분포 실험을 통해 *in vivo*에서 종양의 retention과 약동학적 특성이 더 높다는 것을 알 수 있었다. 간에서 섭취는 [⁶⁴Cu]Cu-NODAGA-galacto-BBN에서 1.13 ± 0.19% ID/g (1 h), 0.82 ± 0.35% ID/g (3 h)이었으며, [⁶⁴Cu]Cu-NODAGA-BBN을 주사한 마우스에서 2.69 ± 0.60% ID/g (1 h), 2.47 ± 0.23% ID/g (3 h)으로 [⁶⁴Cu]Cu-NODAGA-galacto-BBN이 더 낮은 것을 확인하였다. 이에 반해 종양 섭취는 1 h 와 3 h 에서 [⁶⁴Cu]Cu-NODAGA-galacto-BBN 0.53% ID/g, 1.96 ± 1.16% ID/g이고 [⁶⁴Cu]Cu-NODAGA-BBN에서

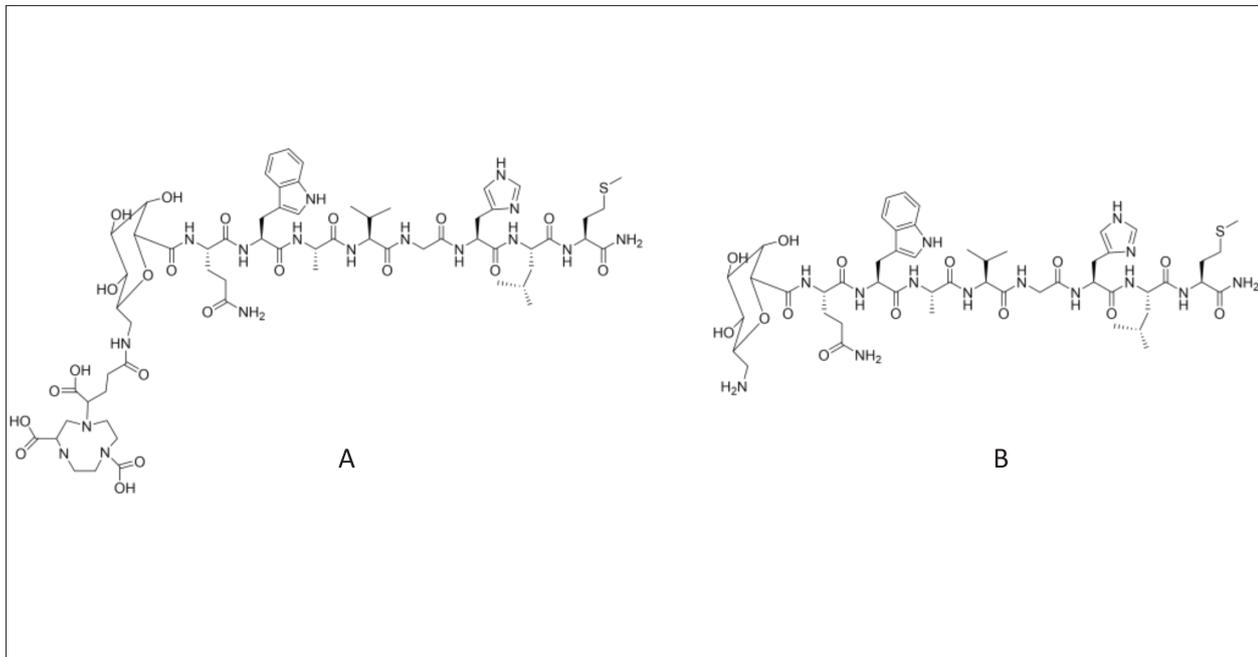


Figure 2. Chemical structure of NODAGA-galacto-BBN (A) and galacto-BBN (B).

1.62 ± 0.23% ID/g, 1.18 ± 0.18% ID/g로 ⁶⁴CuCu-NODAGA-galacto-BBN의 종양섭취가 더 높은 것을 확인할 수 있었다. 종양 대 혈액의 비율도 기존 유도 체보다 높은 것을 확인하였다. 종양 대 혈액의 높은 비율은 혈액 내 리간드가 빠르게 배출되어 영상의 품질이 우수해진다. BBN에 galactose 링커를 도입하여 종양 대 혈액의 비율이 높아졌으며, *in vivo*에서 안정성과 표적 효능을 증가시키는 것을 알 수 있다. Galactose는 소수성을 줄이는 역할을 함으로서, 간의 섭취를 줄이고 방사능의 빠른 배출을 돕는다. 따라서 ⁶⁴CuCu-NODAGA-galacto-BBN은 기존의 물질인 ⁶⁴CuNODAGA-BBN 보다 효과적으로 GRPR을 표적하는 화합물임을 알 수 있다.

[⁶⁸Ga]Ga-iPSMA-Lys³-BBN

전립선 특이막 항원(PSMA)과 GRPR은 각각 다른 단계의 전립선암에서 과 발현된다(13). GRPR은 암의 초기 단계에서 발현의 밀도가 높아지는 것을 확인할 수 있었고, PSMA는 암의 모든 단계에서 높게 나타나는 것을 알

수 있다(14-18). 이를 바탕으로 두 가지의 표적에 모두 결합을 할 수 있는 iPSMA-Lys³-BBN을 합성하여 임상 연구를 수행하였다(19). iPSMA-Lys³-BBN는 PSMA와 GRPR에 높은 친화력을 보였고 이를 바탕으로 생물역동학 평가를 진행하였다. iPSMA-Lys³-BBN의 분자량은 2764.38 g/mol로 작지 않은 분자량임에도 빠른 혈액 내 배출이 확인되었다. 이러한 결과는 PET 영상을 보았을 때 신장에서 배출과 연관성이 있음을 확인하였다. 췌장이 GRPR을 발현하고 침을 분비한다는 것은 잘 알려져 있다. 따라서, 췌장과 침샘 섭취가 낮은 PET 영상 [⁶⁸Ga]Ga-iPSMA-BBN의 생체 내 이중 표적이 되었다는 증거로 볼 수 있다. [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11과 비교하였을 때 [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11의 평균 유효선량은 0.0220 mSv/MBq 그리고 [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-BBN은 0.0217 mSv/MBq으로 [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-BBN이 더 빠른 혈액 배출을 보였다. 하지만 침샘에서는 [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11 값이 0.12 mGy/MBq, [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-BBN는 0.035 mSv/MBq으로 기존에 연구되었던 화합물인 [⁶⁸Ga]Ga-Lys³-BBN 이나 [⁶⁸Ga]Ga-BAY 86-7548보다 4배 높은 것을 확인하였다(20, 21). 본 연구에서는 4명의 환자를 대상으로 [⁶⁸Ga]Ga-iPSMA-BBN의 방사선 선량측정을 실시하여 종양 섭취

Table 1. Radiolabeled BBN analogues for clinical studies

Name	Target	Location	Phase	Primary Purpose
[⁶⁸ Ga]Ga-DOTA-BBN	Prostate Carcinoma, GRPR	Stanford University	Phase 2	Diagnosis
[⁶⁸ Ga]Ga-NeoBOMB1	Breast Cancer, Prostate Cancer, Colorectal Cancer, Non-Small Cell Lung Cancer, Small Cell Lung Cancer	Advanced Accelerator Applications	Phase 2	Diagnosis
[⁶⁸ Ga]Ga-RM2	Prostate Cancer, GRPR	Memorial Sloan Kettering Cancer Center	Phase 2	Diagnosis
[⁶⁸ Ga]Ga-BAY86-7548	Prostate Cancer	Life Molecular Imaging SA	Phase 1	Diagnosis
BAY86-4367	Prostate Cancer	Bayer	Phase 1	Diagnosis
[^{99m} Tc]Tc-Demobesin-4	Prostate Cancer	Cancer Research UK	Phase 1	Diagnosis
[¹⁷⁷ Lu]Lu-NeoB	Neoplasms	Advanced Accelerator Applications	Phase 1 Phase 2	Therapy
[⁶⁸ Ga]Ga-NOTA-RM26	Gastrointestinal	Peking Union Medical College Hospital	Early Phase 1	Diagnosis
[⁶⁸ Ga]Ga-RM2 compared to [⁶⁸ Ga]Ga-PSMA-617	Prostate Cancer	University Hospital, Bordeaux	Phase 2	Diagnosis
[²¹² Pb]Pb-DOTAM-GRPR1	GRPR-expressing tumor	Orano Med LLC	Phase 1	Therapy

를 시각화하여 평가하였다. 임상에서 [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-BBN은 BBN이나 PSMA 단량체보다 종양의 섭취가 높은 것을 확인할 수 있었다. 하지만 PET 영상은 악성종양에서 [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11이 더 높은 SUV_{max} 값을 보이는 것을 볼 수 있었는데, 이것은 병의 진행도에 따른 종양의

수용체 밀도에 의한 것으로 판단된다. [⁶⁸Ga]Ga-iPSMA-BBN은 적절한 생체역학 및 선량측정 패턴으로 PSMA와 GRPR을 모두 감지할 수 있으며, 전립선암의 진단을 위한 적합한 PET 영상 프로브가 될 수 있음을 증명하였다.

[⁶⁴Cu]Cu-SAR-Bombesin

유방암에서는 대부분 에스테로겐 수용체(ER+)와 프로그스테론 수용체(PR+)를 많이 발현하며, 이 수용체들은 [¹⁸F]fluorodeoxyglucose (FDG) PET/CT영상에서 낮은 민감도를 갖는다(22-24). GRPR은 ER/PR 양성 유방암과 그 전이암에서 과 발현된다(25). 호주의 St Vincent’s병원 연구팀은 [⁶⁴Cu]Cu-Sarcophagine(SAR)-BBN을 이용하여 재발 전이성 ER+/PR+/human epidermal growth factor-2-음성 (HER2-)인 유방암 진단 임상연구를 수행하였다(26). 혈액, 활력징후, 심전도, 방사성의약품의 혈액배출, 선량측정을 수행하였고, 전이된 암세포 조직시료를 통해 GRPR 발현 정도를 평가하였다. [⁶⁴Cu]Cu-SAR-BBN을 이용해 PET/CT를 찍은 환자들은 3주 내에 기존 영상기법인 FDG PET 영상, 뼈스캔, CT로 분석하였다. 7명의 환자를 대상으로 하였는데 7명 중에 1명은 de-novo 전이성 유방암이며, 6명은 전이된 유방암 환자로 구성되었다. 1명의 환자는 [⁶⁴Cu]Cu-SAR-BBN 양성/[¹⁸F]FDG 음성이었다. 7명의 환자중에 4명은 [⁶⁴Cu]Cu-SAR-BBN에 양성/[¹⁸F]FDG 양성이며, 이 환자들은 [⁶⁴Cu]Cu-SAR-BBN의 SUV_{max} 값이 [¹⁸F]FDG보다 15 대 12로 더 높은 것을 확인할 수 있었다. Lobular subtype 환자 2명은 [⁶⁴Cu]Cu-SAR-BBN의 SUV_{max} 값이 20 대 11로 FDG보다 높은 것을 알 수 있었다. 선량 측정 전신에 200 MBq의 [⁶⁴Cu]Cu-SAR-BBN를 주사했을 때 효과적이었다. 따라서 [⁶⁴Cu]Cu-SAR-BBN의 PET/CT영상은 임상적으로 사용할 수 있으며, ER+/PR+/HER2- 전이성 유방암 환자, 특히 lobular subtype 환자에서 유의미한 진단 결과를 얻을 수 있었다. 뿐만 아니라, BBN을 기반으로 다양한 방사성의약품들은 유방암을 비롯해 전립선암, 폐암 등을 표적으로 임상시험 연구가 전세계적으로 이루어지고 있다(Table 1).

Radiohalogen-labeled BBN analogues

²¹¹At-labeled BBN derivatives

전립선암은 전이가 발생했을 때 국소적이면 낮은 안드로겐 수치에도 불구하고 전립선 특이 항원 수치가 증가하는 진행성 거세저항성 전립선 암이 발병한다(27).

기존의 호르몬 요법이나 항암제로 예후가 좋지 않은 환자에게는 방사성의약품을 이용한 표적 방사성핵종 치료를 시도하기도 한다(28, 29). 표적 방사성핵종 치료는 방사성핵종과 운반체를 결합해야 하는데, 알파입자를 방출하는 방사성핵종인 ²¹¹At을 사용하여 표적 알파 치료를 행할 수 있다(30-33). ²¹¹At은 반감기가 7.2시간으로 체내 생물학적 반감기가 짧은 펩타이드 운반체에 표지하여 표적 알파치료에 적합하다. 본 연구에서는 GRPR수용체에 높은 친화력을 가진 BBN(7-14)를 운반체로 이용하여, 알파치료용 BBN 유도체를 합성하고자 하였다(34). 먼저 ²¹¹At 과 유사한 화학적 성질을 갖는 비방사성 요오드를 포함하는 3-iodobenzoyl bombesin(IB-BBN)으로 결합 친화력을 확인하고 ²¹¹At이 표지된 BBN 유도체를 *in vitro*와 *in vivo*에서 평가하였다. 먼저 비방사성 요오드 BBN의 아미노산 서열을 다르게 하여 종양에 대한 결합 친화력을 비교하여 가장 친화력이 높은 BBN 유도체를 선택하였다. *N*-succinimidyl-3-[²¹¹At]astatobenzoate (SAB)로 표지 후 BBN 유도체에 결합한 [²¹¹At]AB-BBN 유도체는 PC-3 세포에서 실험을 통해 약 80% 내재화됨을 확인하였다. 생체 분포 실험 결과 종양과 췌장에 특이적으로 섭취되며 갑상선 섭취 또한 억제군과 비교하였을 때 감소하는 것을 확인하였다. 하지만 갑상선, 복강, 폐, 비장 등에 높게 섭취되었다. 이러한 높은 갑상선 섭취는 탈아스타틴화에 기인하는 것으로 AB 화합물이 BBN처럼 작은 분자량을 갖는 펩타이드 분자와 컨쥬게이션되었을 때 발생하는 경향을 보인다(35, 36). 억제군에서는 간접적으로 탈아스타틴화를 감소시켜 아스타틴이 갑상선에 축적되는 현상을 줄일 수 있었다. BBN 유도체는 수용체에 결합되고, 세포내 내재화가 이루어진 뒤, 리소솜에서 분해되는 것으로 추정된다. 요오드가 표지된 *N*-succinimidyl-3-iodobenzoate (SIB)에 경우 세포내재화 이후 방사성 대사체는 요오드가 떨어지지 않고 혈액으로 다시 이동한다. 하지만 아스타틴은 리소솜에 의한 산화 탈아스타틴이 요오드에 비해 37 °C에서 6 × 10⁶ 배 빨리 일어나는 것으로 확인되었다. 본 연구에서 개발한 [²¹¹At]AB-BBN은 종양보다 정상조직에서 더 높은 섭취로 인해 치료효과가 떨어지며, 펩타이드 분해가 일어나서 펩타이드 안정성이 떨어진다. 향후 연구로 BBN 아미노산 서열과 링커의 최적화를 통해 체내

안정성과 종양 섭취를 향상시킬 필요가 있다.

[¹²⁵I]I-BO530

지난 수십 년 동안 전립선 암 관련 가장 많이 연구된 두 가지 분자 표적은 G-단백질 결합 수용체인 GRPR과 PSMA이다(37). GRPR은 초기에 발현이 더 높은 반면 PSMA는 병의 진행에 따라 증가하기 때문에, 두 마커를 표적으로 하였을 때 단일 표적 리간드보다 넓은 범위를 포함하고 영상 민감도를 향상시켜 효과적일 수 있다(38-41). 이 연구를 위해 이중 표적용 PSMA-617, RM26 분자 사이에 X-triazoyl-Tyr-PEG2 구조의 3가지 링커(X= PEG2 (BO530), (CH₂)₈ (BO535), 또는 none (BO536))를 도입하여 합성하였다(42). 합성완료한 펩타이드는 방사성요오드를 표지하여 GRPR과 PSMA에 대한 결합 특이성을 평가하기 위해 PC-3 (GRPR+), LNCaP (PSMA+), PC-3pip (GRPR/PSMA+) 세포를 이용해 *in vitro*, *in vivo* 실험을 수행하였다. 3 중 heterodimer는 약 70%의 높은 방사화학적 수율로 표지되었고, 높은 전립선암 세포 섭취와 과량의 RM26 과 PSMA에 의해 섭취 억제가 되었다. PC-3와 PC-3pip 세포에서 ¹¹¹In을 표지한 RM26 과 PSMA-617에 대해 BO536의 경우 각각 6 ± 2, 80 ± 7 nM의 IC₅₀ 값을 보였다. GRPR과 PSMA 발현 종양세포를 이식한 마우스에 대한 섭취 특이성을 살펴본 실험에서 [¹²⁵I]I-BO535는 RM-26이나 PSMA-617에 의해 섭취억제가 되질 않았으며, [¹²⁵I]I-BO535는 PSMA-617에 의해 섭취억제가 있었으나 RM26에 대한 섭취억제는 거의 없었다(약 13%). PC-3pip 이식 마우스에서 수행한 체내분포 실험에서 [¹²⁵I]I-BO530는 주사 후 3 h에 30-35% ID/g의 높은 종양 섭취를 보였다. 정상장기는 빠른 배출로 인해 24 h 이후 종양섭취는 신장, 췌장 등 다른 장기에 비해 높았고 72 h에는 종양을 제외한 대부분의 장기에서 방사능이 배출되었다. 이 연구 결과로 보았을 GRPR/PSMA 이중 표적 리간드인 [¹²⁵I]I-BO530는 테라노스틱(theranostics)에 활용될 수 있을 것으로 기대한다.

Conclusion

본 종설에서는 전립선암, 유방암 등에서 과 발현되는 GRPR을 표적하는 방사성리간드를 방사성동위원소의 화학적 성질에 따라 금속성과 할로젠족 방사성동위원소로 나누어 정리하였다. BBN은 GRPR과 결합력이 매우 높기 때문에 BBN을 기반으로 한 다양한 방사성의약품의 연구가 진행되고 있으며, 진단 및 치료의 결과에서도 임상에 도입될 만큼 매우 효과적이라는 것이 입증되고 있다(Table 1). 하지만 아직 대부분의 BBN 기반 방사성의약품이 임상 초기단계로 상품화가 이루어진 것은 없지만, 향후 종양 대 일반장기의 비율을 더 높이고 빠른 종양 배출을 개선한다면 보다 우수한 GRPR 표적 방사성의약품이 개발될 것으로 예상된다.

Acknowledgments

This research was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korean government (MSIT) (No.2021-R1F1A1047996 and 50461-2022).

References

1. Iagaru A, Will GRPR compete with PSMA as a target in prostate cancer? *J Nucl Med* 2017;58:1883-4.
2. Ohki-Hamazaki H, Iwabuchi M, Maekawa F. Development and function of bombesin-like peptides and their receptors. *Int J DeV Biol* 2005;49:293-300.
3. Battey JF, Way JM, Corjay MH, Shapira H, Kusano K, Harkins R, Wu JM, Slattery T, Mann E, Feldman RI. Molecular cloning of the bombesin/gastrin-releasing peptide receptor from Swiss 3T3 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88(2):395-9.
4. Fathi Z, Corjay MH, Shapira H, Wada E, Benya R, Jensen R, Viallet J, Sausville EA, Battey JF. BRS-3: a novel bombesin receptor subtype selectively expressed in testis and lung carcinoma cells. *J Biol Chem* 1993;268(8):5979-84.
5. Nagalla SR, Barry BJ, Creswick KC, Eden P, Taylor JT, Spindel ER. Cloning of a receptor for amphibian[Phe13]bombesin distinct from the receptor for gastrin-releasing peptide: Identification of a fourth bombesin receptor subtype (BB4). *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:6205-9.
6. Wada E, Way J, Shapira H, Kusano K, Lebacqz-Verheyden AM, Coy D, Jensen R, Battey J. cDNA cloning, characterization, and brain region-specific expression of a neuromedin-B-preferring bombesin receptor. *Neuron* 1991; 6:421-0.
7. Cescato R, Maina T, Nock B, Nikolopoulou A, Charalambidis D, Piccand V,

- Reubi JC. Bombesin receptor antagonists may be preferable to agonists for tumor targeting. *J Nucl Med* 2008;49(2):318-26.
8. Reubi JC. Peptide receptors as molecular targets for cancer diagnosis and therapy. *Endocr Rev* 2003;24(4): 389-427.
 9. Llinares M, Devin C, Chaloin O, Azay J, Noel-Artis AM, Bemad N, Fehrentz JA, Martinez J. Syntheses and biological activities of potent bombesin receptor antagonists. *J Pept Res* 1999;53(3):275-83.
 10. Rogers BE, Bigott HM, McCarthy DW, Della Manna D, Kim J, Sharp TL, Welch MJ. MicroPET imaging of a gastrin-releasing peptide receptor-positive tumor in a mouse model of human prostate cancer using a ⁶⁴Cu-labeled bombesin analogue. *Bioconjugate Chem.* 2003;14:756-63.
 11. Parry JJ, Andrews R, Rogers BE. MicroPET imaging of breast cancer using radiolabeled bombesin analogs targeting the gastrin-releasing peptide receptor. *Breast Cancer Res Treat* 2006;101(2):175-83.
 12. Kim MH, Park JA, Woo SK, Lee KC, An GI, Kim BS, Kim KI, Lee TS, Kim CW, Kim KM, Kang JH, Lee YJ. Evaluation of a ⁶⁴Cu-labeled 1,4,7-triazacyclononane, 1-glutaric acid-4,7 acetic acid (NODAGA)-galactose-bombesin analogue as a PET imaging probe in a gastrin-releasing peptide receptor-expressing prostate cancer xenograft model. *Int J Oncol* 2015;46(3):1159-68.
 13. Escudero-Castellanos A, Ocampo-García B, Ferro-Flores G, Santos-Cuevas C, Morales-Ávila E, Luna-Gutiérrez M, Isaac-Olivé K. Synthesis and preclinical evaluation of the ¹⁷⁷Lu-DOTA-PSMA(inhibitor)-Lys³-bombesin heterodimer designed as a radiotheranostic probe for prostate cancer. *Nucl Med Commun* 2018;40(3):278-86.
 14. Kähkönen E, Jambor I, Kemppainen J, Lehtiö K, Grönroos TJ, Kuisma A, Luoto P, Sipilä HJ, Tolvanen T, Alanen K, Silén J, Kallajoki M, Roivainen A, Schäfer N, Schibli R, Dragic M, Johayem A, Valencia R, Borkowski S, Minn H. *In vivo* imaging of prostate cancer using [⁶⁸Ga]-labeled bombesin analog BAY86-7548. *Clin Cancer Res* 2013;19(19):5434-43.
 15. Wieser G, Mansi R, Grosu AL, Schultze-Seemann W, Dumont-Walter RA, Meyer PT, Maecke HR, Reubi JC, Weber WA. Positron emission tomography (PET) imaging of prostate cancer with a gastrin releasing peptide receptor antagonist - from mice to men. *Theranostics* 2014;4(4):412-9.
 16. Nock BA, Kaloudi A, Lymperis E, Giarika A, Kulkarni HR, Klette I, Singh A, Krenning EP, de Jong M, Maina T, Baum RP. Theranostic perspectives in prostate cancer with the gastrin-releasing peptide receptor antagonist NeOBOMB1: preclinical and first clinical results. *J Nucl Med* 2017;58(1):75-80.
 17. Sah BR, Burger IA, Schibli R, Friebe M, Dinkelborg L, Graham K, Borkowski S, Bacher-Stier C, Valencia R, Srinivasan A, Hany TF, Mu L, Wild PJ, Schaefer NG. Dosimetry and first clinical evaluation of the new ¹⁸F-radiolabeled bombesin analogue BAY 864367 in patients with prostate cancer. *J Nucl Med* 2015;56(3):372-8.
 18. Budäus L, Leyh-Bannurah SR, Salomon G, Michl U, Heinzer H, Huland H, Graefen M, Steuber T, Rosenbaum C. Initial experience of ⁶⁸Ga-PSMA PET/CT imaging in high-risk prostate cancer patients prior to radical prostatectomy. *Eur Urol* 2016;69(3):393-6.
 19. Rivera-Bravo B, Ramírez-Nava G, Mendoza-Figueroa MJ, Ocampo-García B, Ferro-Flores G, Ávila-Rodríguez MA, Santos-Cuevas C. [⁶⁸Ga]Ga-iPSMA-Lys³-Bombesin: Biokinetics, dosimetry and first patient PET/CT imaging. *Nucl Med Biol* 2021;96-97(54-60):54-60.
 20. Roivainen A, Kahkonen E, Luoto P, Borkowski S, Hofmann B, Jambor I, Lehtiö K, Rantala T, Rottmann A, Sipilä H, Sparks R, Suilamo S, Tolvanen T, Valencia R, Minn H. Plasma pharmacokinetics, whole-body distribution, metabolism, and radiation dosimetry of ⁶⁸Ga bombesin antagonist BAY86-7548 in healthy men. *J Nucl Med* 2013;54(6):867-72.
 21. Manrique-Arias JC, Pitalua-Cortes Q, Pedrero-Piedras R, Rodríguez-Mena G, López T, Cabezas-Ortiz C, García-Pérez O. Synthesis and radiation dosimetry of [⁶⁸Ga]-Ga-Lys1,Lys3-DOTA-bombesin (1,14) antagonist for PET-imaging, as a potential theragnostic tracer in oncology. *J Encap Adsor Sci* 2020;10:29-41.
 22. Choi YJ, Jeong YH, Kim HJ, Lee JH, Cho A, Yun M, Lee JD, Kang WJ. Correlation between hormonal receptor status/human epidermal growth factor receptor 2 overexpression and ¹⁸F-FDG uptake in patients with breast cancer. *J Nucl Med* 2012;53(Suppl 1):1285.
 23. Yoon HJ, Kang KW, Chun IK, Cho N, Im SA, Jeong S, Lee S, Jung KC, Lee YS, Jeong JM, Lee DS, Chung JK, Moon WK. Correlation of breast cancer subtypes, based on estrogen receptor, progesterone receptor, and HER2, with functional imaging parameters from ⁶⁸Ga-RGD PET/CT and ¹⁸F-FDG PET/CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014;41(8):1534-43.
 24. Basu S, Chen W, Tchou J, Mavi A, Cermik T, Czerniecki B, Schnell M, Alavi A. Comparison of triple-negative and estrogen receptor-positive/progesterone receptor-positive/HER2-negative breast carcinoma using quantitative fluorine-18 fluorodeoxyglucose/positron emission tomography imaging parameters: A potentially useful method for disease characterization. *Cancer* 2008;112(5):995-1000.
 25. Morgat C, MacGrogan G, Brouste V, Vélasco V, Sévenet N, Bonnefoi H, Fernandez P, Debled M, Hindie E. Expression of gastrin-releasing peptide receptor in breast cancer and its association with pathologic, biologic, and clinical parameters: A study of 1,432 primary tumors. *J Nucl Med* 2017;58(9):1401-7.
 26. Wong K, Sheehan-Dare G, Nguyen A, Ho B, Liu V, Lee J, Brown L, Dear R, Chan L, Sharma S, Malaroda A, Smith I, Lim E, Emmett L. ⁶⁴Cu-SAR-bombesin PET-CT imaging in the staging of estrogen/progesterone receptor positive, HER2 negative metastatic breast cancer patients: Safety, dosimetry and feasibility in a Phase I Trial. *Pharmaceuticals* 2022;15(7):772.
 27. Attard G, Parker C, Eeles RA, Schröder F, Tomlins SA, Tannock I, Drake CG, de Bono JS. Prostate cancer. *Lancet* 2016;387(10013):70-82.
 28. Kelly SP, Anderson WF, Rosenberg PS, Cook MB, Past, current, and future incidence rates and burden of metastatic prostate cancer in the United States. *Eur Urol Focus* 2018;4(1):121-7.
 29. Parker C, Nilsson S, Heinrich D, Helle SI, O'Sullivan JM, Fossà SD, Chodacki A, Wiechno P, Logue J, Seke M, Widmark A, Johannessen DC, Hoskin P, Bottomley D, James ND, Solberg A, Syndikus I, Kliment J, Wedel S, Boehmer S, Dall'Oglio M, Franzén L, Coleman R, Vogelzang NJ, O'Bryan-Tear CG, Staudacher K, Garcia-Vargas J, Shan M, Bruland ØS, Sartor O. Alpha emitter radium-223 and survival in metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 2013;369:213-23.
 30. Kratochwil C, Bruchertseifer F, Giesel FL, Weis M, Verburg FA, Mottaghy F, Kopka K, Apostolidis C, Haberkorn U, Morgenstern A, ²²⁵Ac-PSMA-617 for PSMA targeting α -radiation therapy of metastatic castration-resistant prostate

- cancer. *J Nucl Med* 2016;57(12):1941-4.
31. Zalutsky MR, Vaidyanathan G. Astatine-211-labeled radiotherapeutics: an emerging approach to targeted alpha-particle radiotherapy. *Curr Pharm Des* 2000;6:1433-55.
 32. Vaidyanathan G, Zalutsky MR. Astatine radiopharmaceuticals: prospects and problems. *Curr Radiopharm* 2008;1(3):177-96.
 33. Guérard F, Gestin JF, Brechbiel MW. Production of [²¹¹At]-astatinated radiopharmaceuticals and applications in targeted α -particle therapy. *Cancer Biother Radiopharm* 2013;28(1):1-20.
 34. Aoki M, Zhao S, Takahashi K, Washiyama K, Ukon N, Tan C, Shimoyama S, Nishijima KI, Ogawa K. Preliminary evaluation of astatine-211-labeled bombesin derivatives for targeted alpha therapy. *Chem Pharm Bull* 2020;68(6):538-45.
 35. Garg PK, Harrison CL, Zalutsky MR. Comparative tissue distribution in mice of the α -emitter ²¹¹At and ¹³¹I as labels of a monoclonal antibody and F(ab)₂ Fragment. *Cancer Res* 1990;50:3514-20.
 36. Wilbur DS, Hamlin DK, Chyan MK, Kegley BB, Quinn J, Vessella RL. Biotin reagents in antibody pretargeting. 6. Synthesis and in vivo evaluation of astatinated and radioiodinated aryl- and nido-carboranyl-biotin derivatives. *Bioconjug Chem* 2004;15:601-16.
 37. Barve A, Jin W, Cheng K. Prostate cancer relevant antigens and enzymes for targeted drug delivery. *J Control Release* 2014;187:118-32.
 38. de Visser M, van Weerden WM, de Ridder CMA, Reneman S, Melis M, Krenning EP, de Jong M. Androgen-dependent expression of the gastrin-releasing peptide receptor in human prostate tumor xenografts. *J Nucl Med* 2007;48(1):88-93.
 39. Silver DA, Pellicer I, Fair WR, Heston WD, Cordon-Cardo C. Prostate-specific membrane antigen expression in normal and malignant human tissues. *Clin Cancer Res* 1997;3(1):81-5.
 40. Sweat SD, Pacelli A, Murphy GP, Bostwick DG. Prostate-specific membrane antigen expression is greatest in prostate adenocarcinoma and lymph node metastases. *Urology* 1998;52(4):637-40.
 41. Schally AV, Comaru-Schally AM, Nagy A, Kovacs M, Szepeshazi K, Plonowski A, Varga JL, Halmos G. Hypothalamic hormones and cancer. *Front Neuroendocrinol* 2001;22(4):248-91.
 42. Abouzayed A, Yim CB, Mitran B, Rinne SS, Tolmachev V, Larhed M, Rosenström U, Orlova A. Synthesis and preclinical evaluation of radio-iodinated GRPR/PSMA bispecific heterodimers for the theranostics application in prostate cancer. *Pharmaceutics* 2019;11(7):358.