

바이오이미징을 위한 고분자

남혜윤 · 권익찬 · 박재형

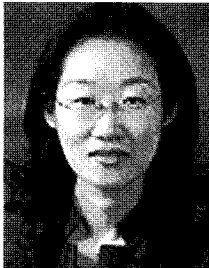
1. 서론

지난 2세기에 걸쳐 고분자과학이 수많은 새로운 학문과 더불어 발전함에 따라, 고분자를 기초로 한 제품과 혁신적인 공정기술들이 의학 및 약학 분야에서 점차 중요한 역할을 하고 있다. 광범위하게 다양한 합성고분자 및 천연고분자들이 생물공학적 응용과 더불어 약물전달체, 조직공학, 재생의학, 그리고 최근엔 바이오이미징(bioimaging) 분야에까지 광범위하게 응용되고 있다. 현대 생물학은 복잡한 생물체를 이루는 각 구성성분들이 어떻게 상호작용하는지 이해하는데 그 목표를 두고 있다. 따라서 살아있는 세포내 구성성분, 그들의 상호작용, 세포내에서의 이동, 그리고 그들의 생성 및 소멸을 이해하는 것은 필수적이다.¹⁻³ 이들 대부분은 바이오이미징 기술에 의한 다양한 분석방법을 통해 가시화될 수 있으며, 빠르게 성장하고 있는 바이오이미징 분야는 살아있는 생물체의 생물학적 현상을 직접적으로 볼 수 있는

새로운 기회를 제공한다.^{4,5}

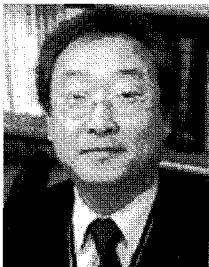
현재 임상이미징을 위한 방법들은 대부분 해부학적 정보나 기능학적 정보를 육안으로 보여주는 수준에서 활용되고 있다. 바이오이미징은 생체내 특히, 질병발생에서 중요한 역할을 하는 분자 수준에서의 과정을 이미지화하기 위하여 새롭게 대두되고 있는 연구 분야이다. 이는 체내에서 생물학적 과정을 가시화할 수 있는 정교한 바이오이미징 프로브를 통해 구현될 수 있다. 바이오이미징이 개별적인 환자에 있어 정상과 비정상인 생물학적 과정을 관찰할 수 있는 높은 가능성을 지니고 있음에도 불구하고, 현 바이오이미징 프로브는 낮은 민감성과 특이성, 표적성 부족으로 인해 임상분야에서의 응용은 제한되고 있다. 따라서 정교하고 최적화된 바이오이미징 프로브를 개발하여 적절한 이미징 수단을 찾는 것이 요구된다.

바이오이미징을 위한 첫 단계는 이미지하고자 하는 표적물질을 결정하는 것이며, 이는 관심있는 질병(예를 들면 암)의 분자적 메커니즘에 대한 이해를 필요로 한다. 일단, 표적질환이 선정되면 생체내에서 표적화할 수 있는 이미징 프로브를 투여한 후, **표 1**에 제시된 이미징 시스템을 이용하여 질병을 진단할 수 있다. 현재 임상에서 사용되고 있는 대다수 바이오이미징 프로브들은 저분자량 화합물로서, 보편적인 화학반응에 의해 이미징 수단에 따른 다양한 화학물질로 표지되고 있다. 예를 들어, 광학영상(optical imaging)을 위한 형광프로브, 자기공명영상(magnetic resonance imaging, MRI)을 위한 상자성체, 양전자방사 단층촬영(positron emission tomography, PET)을 위한 방사성 물질이 표지된 프로브, 그리고 초음파(ultrasound)를 위한 음파



남혜윤

1995 성균관대학교 생물학과(학사)
 1998 성균관대학교 약학과(석사)
 2005 카톨릭대학교 의생물학과(박사)
 2005~2007 카톨릭대학교 뇌신경센터 연구교원
 2007~ 현재 한국과학기술연구원 의과학연구센터 박사후연구원



권익찬

1982 서울대학교 섬유공학과(학사)
 1984 서울대학교 섬유화학(석사)
 1984~1987 한국과학기술연구원 연구원
 1993 University of Utah, (약학박사)
 1993~ 현재 한국과학기술연구원 책임연구원
 2005~ 현재 한국분자영상학회 부회장
 2007~ 현재 한국과학기술연구원 의과학연구센터장



박재형

1996 성균관대학교 고분자공학과(학사)
 1998 광주과학기술원 신소재공학과(석사)
 2002 광주과학기술원 신소재공학과(박사)
 2004 한국과학기술연구원 의과학연구센터 (Post-Doc.)
 2005 Purdue Univ., School of Pharmacy (Post-Doc.)
 2005~ 현재 경희대학교 고분자-섬유신소재학과 조교수
 2007~ 현재 경희대학교 나노의약생명과학과 조교수

Polymers for Bioimaging

한국과학기술연구원 의과학연구센터 (Hae Yun Nam and Ick Chan Kwon, Biomedical Research Center, Korea Institute of Science and Technology (KIST), 39-1 Hawolgok-dong Seongbuk-gu, Seoul 136-791, Korea) e-mail: ikwon@kist.re.kr
 경희대학교 나노의약생명과학과 (Jae Hyung Park, College of Environment and Applied Chemistry, 1 Seochun-dong, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 446-701, Korea) e-mail: jaehyung@khu.ac.kr

표 1. 바이오이미징 시스템

시스템	침투 깊이	해상도	이미징 프로브	임상적용여부
광학영상(Optical Imaging)	<10 cm	1~3 mm	Fluorochromes, Photoproteins	Under development
자기공명영상(MRI)	No limit	10~100 mm	Gadolinium, Iron oxide particles	Yes
정밀핵의학영상(PET/SPECT)	No limit	1~2 mm	¹⁸ F, ¹¹ C, ¹⁵ O, ^{99m} Tc, ¹¹¹ In	Yes
초음파영상(Ultrasound)	<20 cm	50 mm	Microbubbles	Yes

를 발생시키는 미세기포(microbubble)가 있다.^{6,7} 이들 프로브가 생체 내에서 유망한 결과를 보여주고 있음에도 불구하고, 저분자량의 바이오이미징 프로브들은 비특이적이고 불안정하며, 독성이 있고, 체내에서 빠르게 배출되는 경향이 있다.

최근 고분자화학과학과 이미징 분야의 결합은 질병의 진단 및 치료를 위한 고분자에 기초한 바이오이미징 프로브의 탄생을 유도하였다. 현재의 고분자 바이오이미징 프로브들은 혈액 내 반감기가 증가하고 안정성이 증가되었으며, 낮은 독성을 나타낸다. 또한, 비특이적 결합을 줄임으로써 표적성이 향상되었으며, 이에 따라 생체 내에서 더 특이적이고 증폭된 이미징 프로브의 개발이 가능하게 되었다.

본 특집에서는 고분자를 이용한 바이오이미징 분야에 있어 최신의 연구동향을 소개하고자 한다. 주요한 고분자를 변형한 바이오이미징 프로브들을 광학영상, 자기공명영상, 양전자 방사 단층사진법, 초음파로 나누어 이들의 준비와 응용, 장단점을 소개하고, 마지막으로 바이오이미징을 위한 고분자의 전망을 서술하고자 한다.

2. 본론

2.1 광학영상(Optical Imaging)을 위한 고분자

2.1.1 광학영상

광학영상에 사용되는 형광 프로브는 안정성이 우수하고 민감성이 뛰어나 작은 분자나, 단백질, 고분자에 특이적으로 표지가 가능함에 따라, 바이오이미징에 특히 적합하다고 알려져 있다. 그러나, 조직의 영상에 있어 빛의 산란, 자가 형광, 중간 가시영역 빛의 흡수와 같은 주요한 장애들이 존재하고 있다. 650~900 nm의 파장을 가지는 근적외선(Near Infrared, NIR) 영역대의 빛은 세포 및 조직에 의한 산란 및 흡수가 많이 발생하지 않는 것으로 알려져 있으며,⁸ 이에 수많은 유기 NIR 형광물질들이 조직, 기관, 세포 및 분자 수준에서의 기본적인 과정을 관찰하기 위해 개발되고 있다. 광학영상을 위한 이상적인 NIR 형광제제는 650~900 nm 파장에서 최대의 형광과 높은 양자량, 좁은 여기/방출 스펙트럼, 화학결합을 위한 기능기 존재 등과 같은 특성을 가져야 한다. 또한 그들은 물리화학적으로 안정하고 무독하며 생체적합하고 생분해되거나 배출되어야 한다.⁹ 한편, 양자점(Quantum dots, QDs)과 같은 무기 형광제제 또한 바이오이미징 및 표적화 바이오마커로서의 가능성을 지니며, 이들 무기 형광물질은 광탈색(photobleaching)으로부터의 방지, 여러 표적화 물질의 부착 가능성, 그리고 높은 양자량으로 인해 유기 형광물질 사용에 따른 장기 서술된 문제점들을 피할 수 있다.¹⁰ 특히, 고분자가 결합된 유기·무기 형광물질들은 혈액내에서의 반감기 증가, 향상된 안정성 및 표적성, 독성의 감소, 그리고 향상된 해상도와 같은 장점을 지니고 있어서 수많은 고분자를 기초로 한 광학 바이오이미징 프로브들이 성공적으로 개발되고 있다.

2.1.2 광학영상용 활성화 이미징 프로브

보편적인 형광체를 이용한 광학 바이오이미징은 낮은 양자량, 광탈색, 비특이성과 같은 중요한 한계를 보이며, 특히, 비특이성 형광체들은 낮은 신호 대 바탕 비를 나타냄에 따라 무엇보다 표적위치에서의 프로브 농도를 증가시키는 것이 중요하였다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 개발된 활성화 바이오이미징 프로브(혹은 분자표지(molecular beacon)으로도 언급됨)는 특이적 분자상호작용에 따라 변화하는 물리적 성질을 갖는다. Weissleder 연구팀은 프로테아제(protease) 활성의 검출을 위해 소광-탈소광(quenching-dequenching) 모델에 근거한 생체내 광학(NIR) 활성화 고분자 프로브를 개발하였다. 즉 그 프로브는 초기상태(소광상태)에서는 빛을 내지 않으며 효소에 의해 프로브가 잘려 형광체가 노출된 후 밝은 형광을 나타낸다. 이때, 형광의 소광은 형광공명 에너지 전이(fluorescence resonance energy transfer)에 의해 일어난다. 이들 프로테아제-활성화 고분자 프로브는 비활성화 이미징 프로브에 비해 비활성화된 상태에서의 소광으로 인해 정상조직에서의 형광강도를 줄일 수 있어, 표적세포 또는 조직에서의 형광강도가 상대적으로 강하게 나타나게 된다.⁹

고분자에 기초한 프로테아제-활성화 프로브들의 여러 구조가 **그림 1**에 요약되었다. 프로브가 질병부위의 표적효소와 반응하기 위해서는 혈관을 따라 이동되어 질병부위의 조직내로 확산해야 하며, 이 점을 충족시키기 위해 혈중에서 오랫동안 순환하는 고분자들이 개발되었다. 1999년 Weissleder 연구팀은 최초로 효소에 의해 잘리는 주사슬 구조를 가진 고분자를 기초로 한 활성화 프로브를 소개하였다.¹¹ 그들은 **그림 1(A)**에서와 같이 poly-L-lysine(PLL) 주사슬에 multiple methoxy polyethylene glycol(MPEG)이 결합된 공중합체(PGC)를 이용하였다. 각 PLL 주사슬은 평균 92개의 MPEG 분자와 11개의 Cy5.5 분자를 포함하며((Cy5.5)₁₁-PLL-MPEG₉₂) 효소(cathepsin B(CaB)와 trypsin)에 의해 잘리는 부위로서 44개의 변형되지 않은 lysine 잔기를 가지고 있다. 이 프로브는 *in vitro* 연구에서 잘리지 않은 형태에 비해 12배 높은 NIR 형광을 나타냈으며, 종양모델에 있어 암진행과 관련된 주요한 프로테아제인 CaB의 발현정도도 이미지 화할 수 있는 가능성을 보여주었다.¹² 또한 PGC를 기초로 한 CaB-활성화 프로브는 동일한 크기의 암에서 높은 침윤성 전이 유방암세포(DU4475)와 잘 분화된 유방암세포(BT20)의 종양을 구별할 수 있었으며, CaB 발현이 증가하는 류마티스성 관절염, 동맥경화증 같은 다른 질병도 관찰이 가능하였다.

여기서 발전된 또 다른 구조는 주사슬과 NIR 형광체 사이에 특이적 펩타이드 서열을 가진 연결분자를 도입하는 것이다(**그림 1(B)**). 즉, C-말단에 cystein 잔기를 가진 효소 특이적인 기질펩타이드를 iodoacetylated PGC에 thiol- 특이적 반응을 통해 부착시킨 후 Cy5.5와 같은 NIR 형광체를 기질펩타이드의 N-말단에 결합시키는 것이다. 대표적인 프로테아제-활성화 NIR 형광이미징 프로브들에 대하여 관련질병 및 효소 특이적 펩타이드 서열과 함께 **표 2**에 요약하였다.

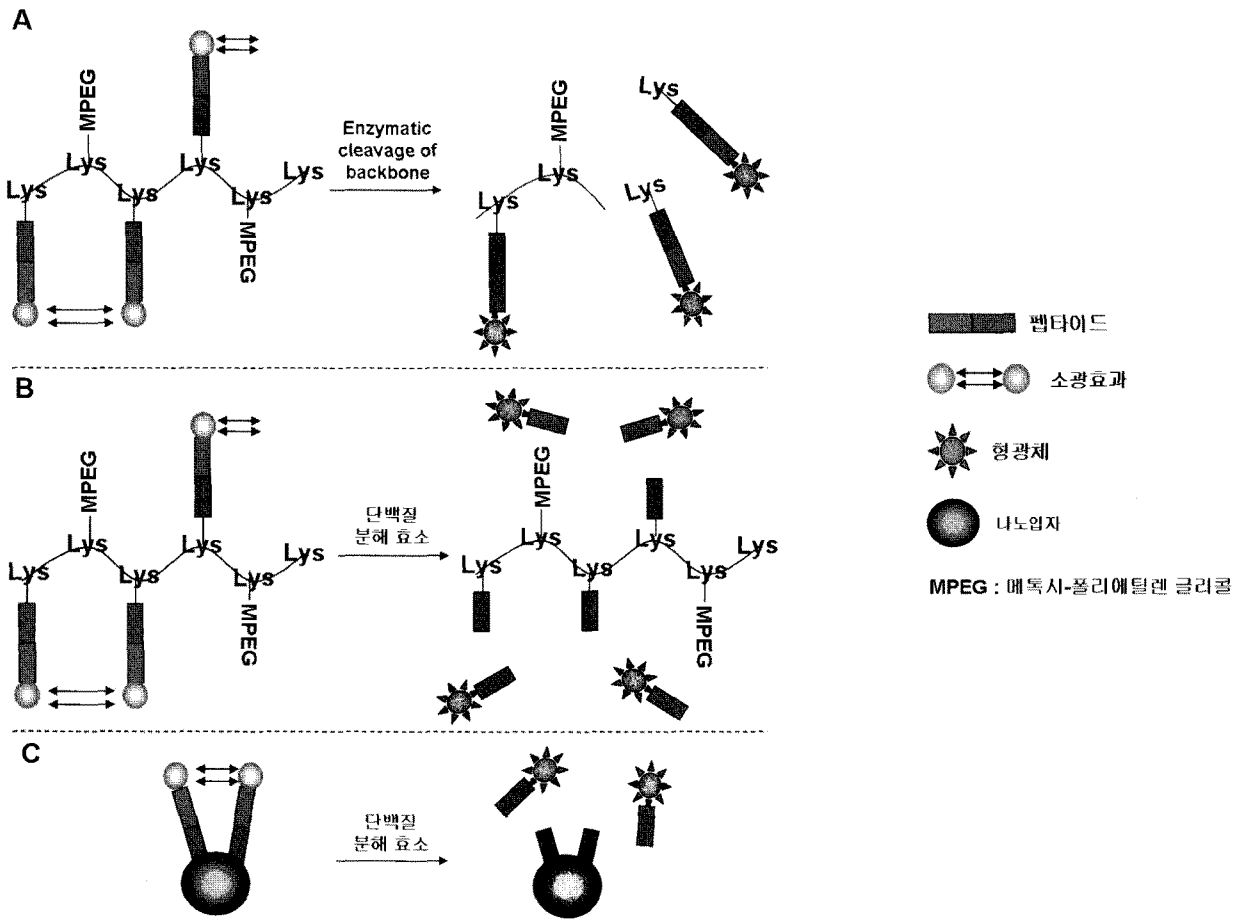


그림 1. 단백질효소에 의한 활성화 프로브의 개념도.

표 2. 프로테아제-활성화 NIRF 이미징 프로브

타겟 프로테아제	질병	펩타이드 기질
Cathepsin B	Breast cancer	K-K
	Lymph nodes	
	Lung cancer	
	Rheumatoid arthritis	
	Artherosclerosis	
Cathepsin D	Breast cancer	PICF-FRL
Cathepsin S		AL-RA
MMP-2	Fibrosarcoma	PLG-VRG
MMP-9	Myocardial infarction	SGKGRQ-ITA
MMP-2/-9	Artherosclerosis	GGPRQ-ITAG
	Macrophage	
MMP-7	Fibrosarcoma	GVPLS-LTMGC
Thrombin	Cardiovascular	F(Pip)R-S
FXIIIa	Cardiovascular	NQ-EQVS
Caspase-1	Apoptosis	WEHD-
Caspase-3	Apoptosis	DEVD-
Urokinase plasminogen activator (uPA)	Cancer	GR-SANA
HIV protease	HSV	GV-SQNY-PIVG
DPP-IV		GP-GP

- Cleavage site.

활성화 이미징 프로브를 이용하면 세포내에서 발생하는 다양생물학적 현상을 효과적으로 영상화할 수 있다. 최근에는 살아있는 세포에

서 세포사멸(apoptosis)을 이미징하기 위해 고분자 나노입자로 된 활성화 프로브가 개발되었다.¹³ 친수성 고분자인 branched poly(ethyleneimine) (PEI)에 소수성 분자인 deoxycholic acid (DOCA)를 결합시켜 PEI-DOCA 고분자 나노입자를 만든 후 caspase-3에 대한 펩타이드 기질인 DEVD를 포함한 Cy5.5-DEVD-SH를 결합시켰다. 이들 나노프로브의 NIR 형광신호는 *in vitro*에서 caspase-3가 존재하지 않을 때에 비해 10배 증가하였으며, 종양 괴사 인자 세포사멸 유도 리간드(Tumor necrosis factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand, TRAIL)로 처리된 HeLa 세포에서 세포사멸의 이미지화가 가능하였다.

2.1.3 광학영상용 표적화 이미징 프로브

표적화 광학 바이오이미징 프로브는 일반적으로 형광물질 혹은 양자점(QD)에 친화성 리간드(항체, 펩타이드, 저분자)를 화학적으로 결합시켜 제조할 수 있다. 다양한 친화성 리간드가 결합된 이미징 프로브들은 쉽게 제조될 수 있고, 이들은 *in vitro*에서 분자특이성을 나타내게 된다. 고분자를 이용하여 표적지향성 이미징 프로브를 만들게 되면 혈류내에서 오랫동안 순환할 수 있고, 고분자에 많은 프로브 분자를 결합할 수 있으며, 낮은 면역성 및 독성을 나타내는 장점이 있다. 예를 들어, NIR 형광체가 연결된 E-selectin 결합 펩타이드가 접합된, PEGylated PLL은 E-selectin(CD62E)에 대한 높은 결합력을 보인다. E-selectin은 대부분의 암에서 발현이 증가되며, 특히 혈관형성이 활발히 진행 중인 조직이나 분열중인 미세혈관 내피세

포에서 발현되는 전염증성 마커이다. 이러한 고분자를 기초로 한 표적화 물질은 비특이적 흡수에 비해 20~30배의 높은 결합 특이성을 보이며, 사람 내피세포에서 E-selectin 발현을 이미지하기 위해 사용되고 있다.¹⁴

고분자에 기초한 표적화 바이오이미징 프로브의 개념은 양자점에도 널리 응용되고 있다. 양자점은 상기 서술한 바와 같이 보편적인 유기 형광물질에 비해 여러 이점을 가지고 있는데, 여기/방출 파장의 조절이 용이하고 수용액 환경에서 높은 양자량을 갖으며, 하나의 양자점이 많은 수의 친화성 리간드를 포함할 수 있는 높은 표적화 효율성을 지니며 광표백에 민감하지 않다. 그러나, 양자점의 잠재적 독성과 용해성은 고려해야 할 중요한 점이다. 독성과 용해성 문제를 해결하기 위하여 양자점의 표면에 간단한 thiol기를 가진 분자, 올리고 수산화인, 덴드론 그리고 펩타이드를 이용하여 변형시키거나, 여러 가지 고분자(양친성 이중블록 혹은 삼중블록 공중합체)나 인지질 미셀, 고분자 비드, 고분자 셀, 양친성 다당류 등을 이용하여 캡슐화시켜 왔다.

고분자는 형광물질의 반감기를 연장하여 수동적 표적화(passive targeting) 효율을 증가시킬 수 있다. Ghoroghchian 등은¹⁵ poly(ethylene oxide)와 polybutadiene의 양친성 이중블록 공중합체와 porphyrin에 기초한 NIR 형광물질로 구성된 폴리머를 개발하였다. 무기성 양자점과 같이, 이들 NIR-방출 폴리머는 수용액에서 높은 광표백 저항성을 나타내며, 투여 후 조직 1 cm 깊이까지 강한 형광을 보였다.

2.2 자기공명영상(MRI)을 위한 고분자

자기공명영상(magnetic resonance imaging, MRI)은 인체의 대부분을 차지하고 있는 물 성분 중 수소의 자기모멘트 성질을 이용하여 주변 조직상태에 따라 변화하는 물 분자의 자기공명학적 성질과 그 농도를 반영하는 자기공명신호 크기의 공간적 분포를 영상화한 것

이다. MRI에 있어 신호강도는 주로 각 위치에서의 물의 양과 자기장 완화시간(relaxation time)인 T1 (spin-lattice relaxation time) 그리고 T2 (spin-spin relaxation time)에 따라 달라진다.

MRI는 고해상도(resolution)와 대조도(contrast)를 가진 영상을 얻을 수 있으며 필요한 각도에서 영상을 촬영할 수 있는 장점을 갖는다. 1988년 MRI 바이오이미징 프로브(조영제)의 출현 이래, MRI는 각종 질병에 대한 해부학적 영상을 얻기 위해 활용되고 있다. 이들 조영제는 특히, MRI에 의해 분별이 어려운 중추신경계, 간, 소화계, 림프계, 유방, 심혈관계, 폐와 같은 인체의 연부 조직 내의 대조도를 증가시킨다.¹⁶ 조영제는 관심있는 특정 부위에 축적되었을 때 적절한 이미징 수단을 이용하여 그 부위를 가시화할 수 있다. 따라서 다른 기관이나 조직에서 이들 프로브를 최소로 유지하는 반면, 관심 있는 부위에서 충분히 축적시키는 것이 요구된다.

MRI 바이오이미징 프로브들은 T1이나 T2를 짧게 해 주는 작용을 한다. 즉, T1을 짧게 해주는 조영제(상자성 혹은 양성 조영제)는 T1 강조영상 인자들의 신호강도를 증가시키며 T2를 짧게 해주는 조영제(초상자성 혹은 음성 조영제)는 T2 강조영상 인자들의 신호강도를 감소시킨다. 임상에서 가장 흔히 사용되는 MRI 바이오이미징 프로브는 금속이온 킬레이트(Mn^{2+} , Gd^{3+})에 기초한 저분자량 체제이다. 그러나, 이들은 일시적인 조직내 유지시간과 독성 그리고 바람직하지 않은 약물동태로 인해 임상적용에 한계를 지닌다. 여러 가지 고분자를 기초로 한 접근방법들이 제안되고 있으며, 이들은 그 치료학적 가치를 향상시킨다.

2.2.1 Gadolinium에 기초한 자기공명영상용 고분자

상자성 조영제는 Gd^{3+} 와 Mn^{2+} 같은 금속이온으로서, 주변조직과 식별이 어려운 식도, 위, 결장의 영상화에 사용되어 왔다.¹⁷ 강한 자성을 지닌 gadolinium(Gd)은 T1 이미징 프로브로서 이용되며, 임상적으

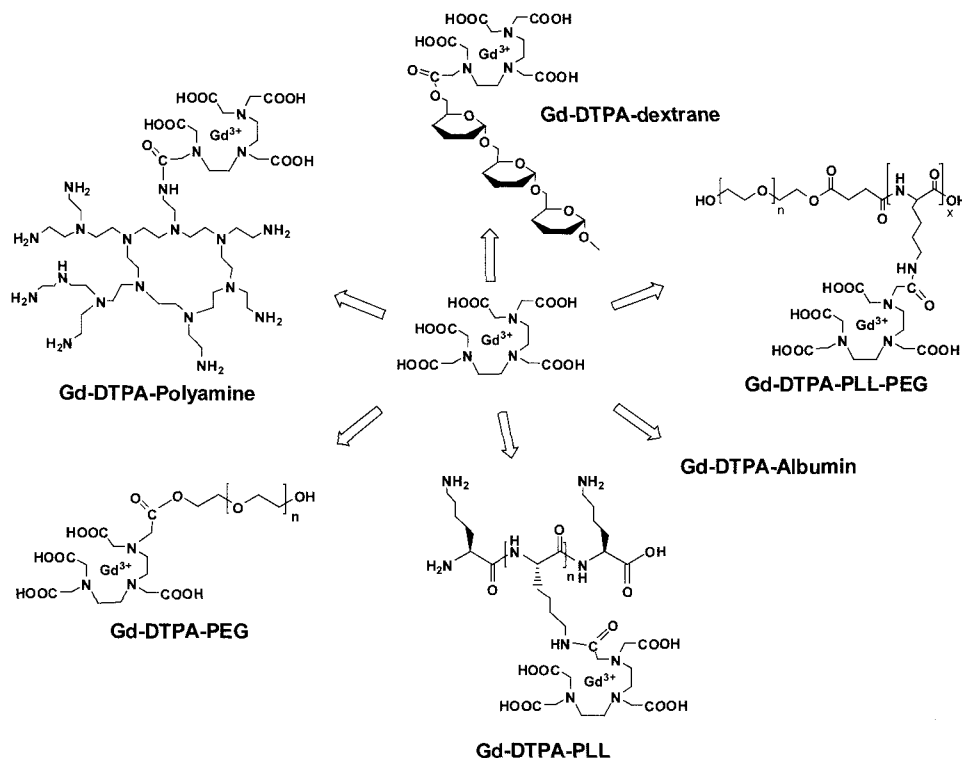


그림 2. 저분자량 Gd 킬레이트와 고분자와의 결합 예.

로 Gd-diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA), Gd-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid 그리고 polyaminopolycarboxylic acid와 복합된 Gd-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-triacetic acid (DOTA) 등이 사용되고 있다. 저분자량의 Gd 킬레이트들은 정맥투여 후, 혈액에서 빠르게 확산되어 낮은 이미지를 나타낸다. 반면, 저분자량 Gd 킬레이트에 생체 적합성을 지닌 고분자(예를 들어, polyamine, PEG, polysaccharides, PLL, albumin)의 결합은 그들의 생물·물리학적, 그리고 약리학적 성질을 변화시킨다(그림 2). 덴드리머, 리포솜, 미셀을 이용한 Gd 킬레이트가 MRI 조영제로서 연구되고 있으며, MRI 바이오이미징 프로브용으로 개발된 고분자 기반 Gd 킬레이트들을 표 3에 요약하였다.

2.2.2 산화철(Iron Oxide)에 기초한 자기공명영상용 고분자

산화철(Iron oxide)에 기초한 초상자성체는 간이나 비장의 망상내피세포계(RES)에 포획되어 큰 철분입자를 형성함으로써 국소자극의 강한 불균형을 초래하여 T2 강조영상에서의 신호를 떨어뜨리는 작용을 한다. 따라서 이 제제들은 조직 부위를 상대적으로 어둡게 하여 대조도를 상승시키는 음성 조영제이다. 산화철입자의 크기에 따라 두 가지 종류로 구분할 수 있으며, 50 nm 이상인 SPIO (superparamagnetic iron oxide)와 50 nm 이하의 크기를 갖는 USPIO (ultrasmall superparamagnetic iron oxide)가 있다. SPIO 입자는 간암 및 비장암의 이미징에 사용되고 있으며, USPIO 입자는 혈관조영과 림프조영을 위한 조영제로서 활용될 수 있다.

SPIO 입자는 강한 대조도를 나타내고 우수한 생체적합성을 지니며 제조하기 용이한 장점이 있다.¹⁸ 그러나, 산화철입자는 수성환경에서 쉽게 응집하고 불안정하여 자성이 변화되는 문제가 있다. 따라서 텍스트란, 텍스트란 유도체, 알부민, poly(vinyl alcohol), 혹은 PEG

와 같은 고분자로 코팅된 산화철입자들이 임상 및 전임상 연구에서 사용되고 있으며, 이러한 고분자로 코팅된 산화철에 기초한 MRI 프로브들을 표 4에 요약하였다.

혈관내 오랫동안 머물 수 있는 텍스트란 혹은 카르복시텍스트란으로 코팅된 산화철나노입자는 MRI용 프로브로서 상업적으로 이용되고 있다. Feridex[®]는 가장 흔히 사용되는 텍스트란이 코팅된 산화철 MRI용 프로브 중 하나로, 직경이 50~200 nm이며 간의 RES 세포에 특이적으로 흡수되는 음성 조영제이다. 카르복시텍스트란이 코팅된 산화철 입자인 Resovist[®]는 평균직경이 60 nm로, Feridex[®]와 마찬가지로 간의 RES에 대한 특이적 조영제로 간암의 초기진단에 임상적으로 사용되고 있다. Saseed 등에¹⁹ 의해 처음 소개된 PEG-Ferron[®] 제제는 혈관내 순환시간을 증가시킨 조영제로, 일반적인 Gd에 기초한 조영제에 비해 신호의 크기와 혈관내 지속시간이 향상되었다. Harris와 그 동료들은 중심부분에 카르복실산기를 가진 친수성 삼중블록 공중합체와 poly(ethylene oxide)로 코팅된 산화철을 연구하였으며, 이 제제는 혈액내에서 안정하고 다른 산화철을 포함한 MRI용 프로브에 비해 자철광 그림 당 더 높은 포화 자기화를 나타냈다.²⁰

최근에 자성유체가 포함된 리포솜들이 생체내 이미징을 위한 MRI 프로브로서 연구되고 있다. Martina 등은 egg phosphatidylcholine과 1,2-diacyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine-*N*-MPEG로 된 자성유체가 포함된 리포솜이 체외 및 체내에서 매우 안정하고, 독성이 없으며, 혈류에서 오랫동안 머물 수 있음을 보고하고, 효과적인 T2 조영제로 응용이 가능함을 제안하였다.²¹ 또한, 자성유체가 포함된 PEGylated 리포솜은 폐동맥과 미세말초혈관에서 신호를 상당히 증폭시키며, 약물운반체 및 MRI 프로브로서 유용할

표 3. 자기공명 영상용 고분자-Gd 킬레이트 접합체 이미징 프로브 및 응용의 예

화학구조	생체 분포	응용
Liposome, paramagnetic Polylysine-(Gd-DTPA) _x -dextran	RES-directed, Lymph nodes	Hepatectomy
Lymphangiography Diphenylcyclohexyl phosphodiester-Gd-DTPA, MS 325 EPIX	Blood pool	MR angiography (MRA)
4-Pentyl-bicyclo [2.2.2] octan-1-carboxyl-di- <i>L</i> -aspartyllysine-DTPA, MP 2269	Blood pool	MRA
(Gd-DTPA)-17, 24 cascade polymer	Blood pool	MRA
Gd-DTPA-PEG-polymers	Blood pool	MRA
(Gd-DTPA) _n -albumin, (Gd-DOTA) _n -albumin	Blood pool	MRA, Breast imaging
(Gd-DTPA) _n -polylysine	Blood pool	MRA
(Gd-DTPA) _n -dextran	Blood pool	MRA
Gd-DTPA L-cystine bisamide copolymers, PGA-cystamine-Gd-DO3A	Blood pool	MRA

표 4. 자기공명 영상용 고분자로 코팅된 산화철 이미징 프로브 및 응용 예

화학구조	생체 분포	응용
Ferrum oxide, (USAN), SPIO, Ami-25, dextran-coated Ferrixan	RES-directed	Hepatectomy
Carboxy-dextran coated iron oxide nanoparticle, SHU 555A	RES-directed	Hepatectomy
USPIO, AMI-227	Blood vessel, lymph	MRA
MION, Monocrystalline iron oxide Nanoparticles	Blood vessel Lymph Cancer	MRA Lymphangiography Diagnosis of cancer
PION, Polycrystalline iron oxide Nanoparticles	RES-directed	Hepatectomy Lymphangiography
Ferromuxsilum (USAN) AMI-121	GI track	GI imaging
Ferristene (USAN) oral magnetic particles (OMP)	GI track	GI imaging

것으로 기대되고 있다.

2.3 핵영상(Nuclear Imaging)을 위한 고분자

핵영상(nuclear imaging) 방법은 민감도가 높고 소량의 추적물질 주입을 요하기 때문에 임상적용에 널리 사용되는 기술로서, 평면감마선투사촬영술(planar gamma scintigraphy)과 단일광자 방출 전산화 단층촬영장치(single photon emission computed tomography, SPECT), 그리고 양전자방출단층촬영장치(positron emission tomography, PET)를 포함한다. 평면감마선투사촬영술은 생체내의 해부학적 정보를 2차원으로 제공하는 한편, SPECT은 동일한 동위원소를 사용함에도 불구하고 3차원 자료를 제공할 수 있다.

2.3.1 감마선투사촬영술을 위한 고분자

감마선투사촬영술에서 얻은 이미지의 질을 높이기 위해 많은 고분자에 기반한 바이오이미징 프로브와 방사선 추적물질들이 개발되어 왔다. 그림 3에서와 같이 친수성 고분자를 결합시켜 프로브의 반감기를 증진시키거나, 표적지향형 물질을 결합시켜 표적부위에 선택적으로 축적될 수 있는 형태의 고분자기반 조영제가 개발되고 있다.

고분자 방사성 혈액 저류 바이오이미징 프로브는 방사성금속 킬레이트가 lysine의 ω -아미노기에 도입될 수 있기 때문에 주로 PLL에 기초하고 있다. 구체적으로 Verweke 등은 ^{99m}Tc -PLL 같은 혈관 잔류가 적은 프로브를 보여주었고,²² Bogdanov 등은 여러 가지 동위원소(^{123}I , ^{131}I , ^{111}In , ^{99m}Tc)로 PLL를 표지하고, lysine의 ω -아미노기가 양전하를 띤 ^{99m}Tc -PLL로서 혈액순환에서 이미징 프로브의 빠른 제거를 유도함을 제시하였다.^{23,24} Weissleder 등은 PEG-*g*-PLL- ^{99m}Tc -DTPA가 혈액내에 오랫동안 지속되고 RES에 축적되지 않음을 보여 주었다. 게다가 PEG-*g*-PLL- ^{99m}Tc -DTPA와 ^{99m}Tc -적혈구가 주입 후 15시간까지 안정적으로 유지되고, 두 가지가 유사한 심장 대 폐 흡수비를 보여줌으로써 혈액 저류 이미징을 위해 PEG-*g*-PLL- ^{99m}Tc -DTPA가 방사선이 표지된 적혈구에 대체될 수 있음을 제시하였다.²⁵

또한, 고분자는 감마선투사촬영술에서 표적화 리간드의 이미징 성질을 증가시키기 위해 사용되어 왔다. 예를 들어 덱스트란(Dextran)은 생물학적 활성을 지닌 기질에 결합되어 프로브의 생체내 제거를 줄이고 안정성을 증가시켰으며, 이에 따라 표적화된 치료 및 진단용 이미징에 사용되어 왔다. Olsson과 그 동료들은 사람 편평 세포암에서 ^{125}I -epidermal growth factor(EGF)-dextran이 ^{125}I -EGF 보다 더 많이 흡수되며, ^{125}I -EGF 사용시 모든 방사능이 5시간 내에 없어지는 반면, ^{125}I -EGF-dextran은 주입된 ^{125}I 활성의 약 30%가 24시간 후에도 유지됨을 보고하였다.²⁶ Vera 등은 전초림프절(sentinel

node) 검출을 위한 감마선투사촬영용 바이오이미징 프로브를 개발하였다. 수용체 기질인 2-imino-2-methoxyethyl-1-*D*-mannose에 대한 고밀도의 부위를 지닌 거대분자 골격에 기초한 이 프로브는 주입부위로부터 빠르게 제거되어 비수용체 표적화 이미징 체재보다 말단결절에서 더 낮은 축적을 보였다.²⁷ Khaw 등은 높은 음성전하를 띤 DTPA에 양성전하를 가진 PLL을 결합하여 항체의 전하를 변화시킴으로써 비표적기관에 대한 활성을 줄이고 개의 심근경색모델에서의 표적화를 향상시켰다.²⁸

앞서 서술하였듯, PEG는 생체적합성을 증진시키고, 면역유전성을 감소시키며, 단백질 분해에 대한 저항성을 부여하며 용해성과 안정성 증진 등과 같은 많은 장점을 프로브에 부여할 수 있다. 따라서, PEGylation과 항체의 방사능 표지는 이미징의 효과를 향상시킨다. Li 등은 ^{111}In -DTPA-PEG-C225이 EGFR(EGF 수용기)가 과발현되는 암부위에 선택적으로 위치하며, EGFR 특이적 리간드인 C225의 PEGylation이 이들의 간 흡수를 상당히 감소시키고 EGFR-양성 종양(예, A431)의 이미징을 향상시킨다고 보고하였다.²⁹ 즉, 단일클론 항체와 금속킬레이터의 연결체로서 PEG 사용은 항체를 기초로 한 감마선투사촬영술의 특징을 최적화하는데 유용한 방법이다. 방사능 표지된 annexin V는 화학적 치료법에 의해 유도된 종양의 세포사멸을 이미징하는데 유용하다. 그러나, annexin V의 반감기가 짧기 때문에 방사능추적물질의 수회 주입이 필요하며, 반감기를 증가시키기 위하여 PEG가 방사성 금속킬레이터와 annexin V 사이의 연결체로서 도입되어 왔다. Ke 등은 taxane 처리 후 고형종양의 변화를 관찰하는데 있어, ^{111}In -DTPA-PEG-annexin V가 ^{111}In -DTPA-annexin V 보다 더 효과적임을 보고하였다.³⁰

2.3.2 SPECT과 PET를 위한 고분자

SPECT 이미징은 감마선투사촬영술과 동일한 방사성동위원소를 투여하고 그 영상을 여러 각도에서 받아 컴퓨터로 계산하여 3차원 이미지를 얻는 기술로서, 심근관류, 종양, 뇌의 이미징에 임상적으로 사용되고 있다. 특히, PEGylation과 같은 고분자 접합이 SPECT를 통한 종양의 이미징에 응용되고 있다. Lu 등은 전이종양내의 림프계를 표적하는 방사성 의약 바이오이미징 프로브로서 ^{99m}Tc -DTPA-PEG-folate를 연구하였다. 이들 프로브는 피하투여 15분이 지난 후, 림프절에서의 방사능이 $5.913 \pm 1.549\% \text{ID/g}$ 이고, 1시간 후에 최대 $13.432 \pm 2.207\% \text{ID/g}$ 까지 도달한 후, 4시간 후 $2.314 \pm 0.278\% \text{ID/g}$ 로 감소되었으며, 신장을 제외한 다른 조직에서는 거의 흡수되지 않았다.³¹

PET는 체내의 기능적 정보와 3차원 이미지를 제공하는 핵영상 기술로서, 대사적으로 활발한 화합물에 짧은 반감기를 지닌 동위원소를 표지하여 사용된다. 가장 대표적으로 사용되는 fluorodeoxyglucose (FDG)는 포도당과 유사한 구조를 나타냄으로써 포도당 대사에 이상이 있는 부위의 진단에 유용하며 종양학, 신경학, 심장학, 약리학에 임상적으로 사용되고 있다. 하지만, FDG는 새로운 바이오이미징 프로브에 의해 제공되는 특이적 표적화의 장점을 갖지 않는다. 감마선투사촬영술과 SPECT과 마찬가지로, 생체고분자가 접합된 체제의 PEGylation은 PET 이미지 향상을 위해 가장 흔하게 사용되는 방법이다. 예를 들어, RGD를 포함한 펩타이드나 folate 같은 특이적 표적물질들이 PET 이미지를 위해 연구되고 있다. RGD를 포함한 펩타이드는 종양의 혈관생성 동안 활성화된 내피세포와 세포외기질 단백질을 매개하는 α_v -integrins에 강하게 결합한다. Haubner 등은

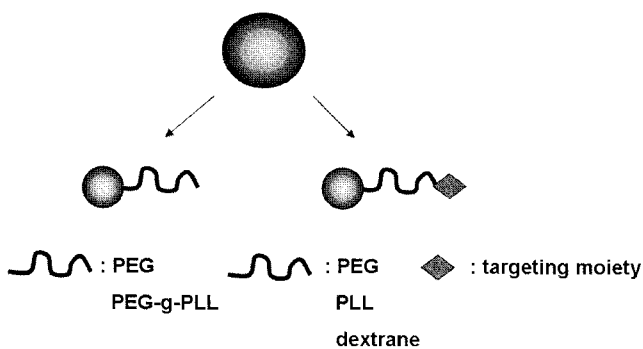


그림 3. 고분자를 기초한 감마선투사촬영술용 조영제.

[¹⁸F]galacto-RGD가 이중이식한 종양에 매우 특이적으로 결합함으로써 높은 종양 대 바탕 비를 나타냄을 관찰하였으며,³² Chen 등은 피하 U87 암모델에서 [¹⁸F]FB-RGD 주입 후 30분에 높은 종양 대 근육 흡수비(5 : 1)를 보고하였다. 게다가 동소이식된 U251T 뇌종양모델의 microPET 연구에서, [¹⁸F]FB-RGD가 정상 뇌에서 거의 흡수되지 않고 높은 종양 대 뇌 흡수비를 나타냈다.³³ 최근 그들은 ⁶⁴Cu 표지된 PEGylated 이합체인 RGD 펩타이드(⁶⁴Cu-DOTA-PEGE [cRGDyK]₂)가 주로 신장을 통해 혈중에서 빠르게 제거됨에 따라 폐암 이미징에 유용함을 보여주었다. [¹⁸F]FDG가 심장에서의 높은 흡수로 인해 전이병변을 식별하기 어렵기 때문에, 이 제제는 일부 종양을 시각화하는데 있어 [¹⁸F]FDG 보다 더 우수하다. PET는 모든 깊이에서 좋은 민감도를 나타내고, 생물학적 분자를 사용하며, 방사능 표지 후 그들의 성질 대부분이 유지되기 때문에 임상에서 널리 사용되고 있다. 최근에는 소동물 이미징을 위한 PET 사용이 증가되고 있으며, 분자영상용 프로브로서 고분자에 접합된 방사능표적인자의 개발에 초점이 맞추어지고 있다.

2.4 초음파 영상(Ultrasound Imaging)을 위한 고분자

초음파는 가장 널리 사용되는 이미징 기술로서, 다용도로 사용할 수 있고 위험성이 낮으며, 저비용으로 간편하게 실시간으로 진단할 수 있는 장점을 지닌다. 초음파 바이오이미징 프로브는 조직과 다른 음향성질을 가진 물질을 도입함으로써 이미지를 향상시키게 된다. 가장 흔한 방법은 미세기포(microbubbles)를 정맥 주사하는 것으로, 프로브(가스)와 매질(혈액 또는 연부조직) 사이의 밀도차를 검출하기 위하여 음파를 사용한다. 이 미세기포의 체내 안정성을 증가시키기 위하여 전형적으로 단백질, 지방, 계면활성제, 최근 들어 고분자를 이용하여 캡슐화하며, 생성된 1~10 μm 직경의 기포는 폐 모세혈관을 통과하여 실제 적혈구 표적인자로서 작용할 수 있다.

미세기포의 합성에 있어 중요한 두 가지 측면은 1) 낮은 확산도와 혈액 용해성을 갖는 가스로 채우는 점과 2) 미세기포를 안정화시킬 수 있는 코팅물질의 봉입이다. 높은 분자량과 밀도를 가진 가스(예로서 perfluoro계와 sulfur hexafluoride)가 널리 사용되고 있으며 특히, perfluorocarbon은 미세기포의 파괴 후 혈류에서 생물학적으로 불활성인 채로 남아있으며 서서히 제거된다.³⁴ 가스기포를 둘러싸고 있는 셸이 이 체재를 장기간 지속시키는데 중요하며, 가스-액체 접촉면의 표면장력을 상쇄하여 혈류에서 이동하는 동안 기포가 소멸되지 않도록 안정화시킨다. 또한 표면재질의 성질은 미세기포의 유동적인 움직임에 영향을 준다. 현재 사용되는 표면물질로는 단백질(Albunex®와

Optison®), 지질(SonoVue®, Definity™, 그리고 Imagent®), 계면활성제(ST68)가 있다. 그러나 이들 이미징프로브 대부분은 안정성이 부족하고, 고주파나 연속적인 이미징모드에서 종종 파괴된다.

고분자표면으로 된 미세기포는 많은 장점을 가지고 있는데, 초음파시 단백질, 지질, 계면활성제의 단분자층보다 혈장에서 더 안정하며, 표면의 탄성이 화학조성과 고분자의 분자량에 따라 조절될 수 있다. 또한 표면이 표적특이적인 리간드 접합을 위해 이용됨으로써, 표적화된 조직이나 세포에서 단일 미세기포까지도 검출이 가능하다. 따라서 이러한 제어 가능한 방출 특성과 생체적합성은 표적화된 약물전달 및 유전자 치료를 위한 운반체로서 사용가능성을 암시한다. 고분자성 미세기포의 이상적인 특징을 표 5에 나열하였다.

2.4.1 고분자에 기초한 초음파 영상을 위한 미세기포

열가소성 지방족 폴리에스터(thermoplastic aliphatic polyesters)는 좋은 생체적합성, 생분해성, 물리적 강도, 분해산물의 무독성과 같은 성질을 지니고 있어 많은 관심을 받고 있다. Polylactide, polyglycolide, polycaprolactone, polylactic-co-glycolic acid (PLGA) 등이 있으며, 미 식약청에 의해 임상적용이 승인된 PLGA는 현재 가장 많이 사용되고 계속적으로 연구되고 있는 합성고분자이다.

바이오이미징을 위한 고분자 미세기포에 있어 고려해야 할 점은 혈액내로 주입된 입자가 혈장단백질들의 비특이적 흡착으로 인해 간의 쿠퍼세포나 지라, 골수에 있는 대식세포로 구성된 망상내피세포에 의해 빠르게 흡수되는 것이다. 이러한 단백질의 흡착을 방지하기 위하여 PLGA 표면이 PLL-g-PEG로 코팅되었다. 즉, 생리학적 pH에서 높은 양전하를 띠는 PLL 골격은 음성 전하를 띠는 PLGA에 자발적으로 결합되며, 또한 코팅된 PLGA 미소구체에 표적화를 위한 선택적인 리간드가 도입될 수 있다.^{35,36}

앞서 설명한 여러 바이오이미징 프로브와 같이 음파를 생성하는 고분자 기반 초음파 영상용 제재들은 두 가지 방법으로 개발되고 있다. 첫째는 질병과 관련된 수용체에 비특이적으로 결합하는, 즉 미세기포 표면 고유의 화학적·전기적 성질을 이용하는 것이며, 두 번째는 미세기포의 표면을 단일클론항체, 펩타이드, 당단백질같은 리간드 분자를 접합함으로써, 혈관내 내피세포의 특이적 분자나 혈액내 성분과 선택적으로 결합하는 특이적 표적화 또는 능동적 표적화이다. 미세기포는 순수한 혈관내 표지인자이기 때문에 대조도가 증가된 초음파를 이용한 바이오이미징은 염증, 혈전형성, 혈관생성과 같은 병변의 진단에 유용하다. 특히, 신생혈관의 내피세포 표적화를 위해 가장 많이 관찰된 리간드인 integrin α_vβ₃와 α₅β₁과 결합하는 RGD 서열로

표 5. 초음파 영상용 고분자 기반 미세기포의 이상적인 특징의 예

기능적 특성	구조적 특성	생체 내 특성
Injectability	Average external diameter ≥ 5 μm narrow size distribution	Passage through pulmonary capillaries
Ultrasound scattering efficiency	Highest density and compressibility difference between medium and microbubbles	Enhancement of diagnostic (anatomic) image
Biocompatibility & biodegradation	Suitable surface chemical moieties	Long circulation within bloodstream Non-toxic effect of degradation product
Ligand carrier	Surface modification with suitable moieties functioning as selective targeting ligands	Targeting imaging in specific tissue or cells
Drug payload & Drug delivery	Suitable reactive chemical functionalities at the surface inertial cavitation in biomedical working frequency range: 1-4 MHz Suitable mechanical properties of the shell and shell thickness narrow thickness distribution	Controlled release and targeted drug delivery

개발된 미세기포를 이용한 연구는 배양된 유방암세포에서 높은 음파생성과 특이적인 흡착을 보여주었다.³⁷

3. 결론

바이오이미징의 목적은 분자적 관점에서 질병의 성격, 진행, 역학을 이해하는 것으로, 그 분야로는 바이오이미징을 위한 프로브의 합성과, 살아있는 세포에서의 이미지화, 질병의 조기진단, 고감도약물스크린, 그리고 다양한 이미징 방법의 개발 등을 포함한다. 그 중, 적절한 바이오이미징 방법과 이에 상응하는 이미징 프로브들은 바이오이미징의 주요한 수단이 된다. 지난 수년 동안 고분자 연구자들은 생체적합하고 생분해성을 가진 고분자를 기반으로 하여 생물학, 약리학, 나노기술, 고분자 화학과 융합된 새로운 치료학 및 나노의학 개발하고자 노력하고 있다. 정교한 바이오이미징 프로브의 임상적용을 실현하기 위하여 생체내에 효과적으로 전달하는 기술이 요구되며, 이를 위한 한 가지 방법이 바이오이미징 체계에 나노의학 기반기술의 특징적인 장점을 응용하는 것이다.

가까운 미래에 테라그노시스(theragnosis)가 전형적인 생체내 진단과 약물전달시스템을 대체하기 시작할 것이며, 이러한 변화는 질병과 장애의 치료에 혁신적인 변화를 가져올 것이다. 테라그노시스는 생물공학, 나노공학, 그리고 정보공학의 도움에 힘입어, 바이오이미징 분야와 나노의학분야에서의 분자 치료학적 그리고 진단학적 접근을 의미하는 것으로, 이는 분자세포 수준에서 여러 질병을 연구하고 진단, 치료하는 전례없는 기회를 제공할 것이다. 최근 고분자를 기반으로 한 바이오이미징 프로브의 발전은 그 특이성과 치료학적 가능성을 증가시키고 있으며, 더구나 이미징 성분과 고분자를 결합시킨 혼합구조는 테라그노시스를 위한 믿을만한 선택이 될 것이다. 바이오이미징에 고분자의 응용이 아직 초기단계에 있으며, 방법의 표준화, 이미징 분석에 있어서의 개선, 그리고 이미징 방법과 기술의 정확성과 재현성 등 많은 일들이 남아있는 것이 사실이다. 그러나, 바이오이미징과 나노의학분야에 있어서의 빠른 기술적·과학적 진보는 생물고분자를 연구하는 과학자에게 임상 및 전임상 단계의 치료법 개발을 위한 새로운 연구 기회를 제공할 것이다.

참고문헌

1. R. Duncan, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2**, 347 (2003).
2. L. J. Lee, *Ann. Biomed. Eng.*, **34**, 75 (2006).
3. M. E. El-Sayed, A. S. Hoffman, and P. S. Stayton, *Expert Opin. Biol. Ther.*, **5**, 23 (2005).
4. B. Weinstein, *Trends Cell Biol.*, **12**, 439 (2002).
5. P. Lang, K. Yeow, A. Nichols, and A. Scheer, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **5**, 343 (2006).
6. S. A. Boppart, A. L. Oldenburg, C. Xu, and D. L. Marks, *J. Biomed.*, **10**, 41208 (2005).
7. A. M. Morawski, G. A. Lanza, and S. A. Wickline, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **16**, 89 (2005).
8. K. Licha, C. Henssenius, A. Becker, P. Henklein, M. Bauer, and S. Wisniewski, *et al.*, *Bioconjug. Chem.*, **12**, 44 (2001).
9. M. Funovics, R. Weissleder, and C. H. Tung, *Anal. Bioanal. Chem.*, **377**, 956 (2003).
10. J. V. Frangioni, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **7**, 626 (2003).
11. R. Weissleder, C. H. Tung, U. Mahmood, and A. Jr. Bogdanov, *Nat. Biotechnol.*, **17**, 375 (1999).
12. C. Bremer, C. H. Tung, A. Jr. Bogdanov, and R. Weissleder, *Radiology*, **222**, 814 (2002).
13. K. Kim, M. Lee, H. Park, J. H. Kim, S. Kim, and H. Chung, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 3490 (2006).
14. M. Funovics, X. Montet, F. Reynolds, R. Weissleder, and L. Josephson, *Neoplasia*, **7**, 904 (2005).
15. P. P. Ghoroghchian, P. R. Frail, K. Susumu, D. Blessington, A. K. Brannan, and F. S. Bates, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **102**, 2922 (2005).
16. H. Kobayashi and M. W. Brechbiel, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **57**, 2271 (2005).
17. L. Calabi, G. Alfieri, L. Biondi, M. De Miranda, L. Paleari, and S. Ghelli, *J. Magn. Reson.*, **156**, 222 (2002).
18. J. W. Bulte and D. L. Kraitchman, *NMR Biomed.*, **17**, 484 (2004).
19. M. Saeed, M. F. Wendland, M. Engelbrecht, H. Sakuma, and C. B. Higgins, *Eur. Radiol.*, **8**, 1047 (1998).
20. L. A. Harris, J. D. Goff, A. Y. Carmichael, J. S. Riffle, J. J. Garburn, and T. G. St. Pierre, *et al.*, *Chem. Mater.*, **15**, 1367 (2003).
21. M. S. Martina, J. P. Fortin, C. Menager, O. Clement, G. Barratt, and C. Grabielle-Madellmont, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 10676 (2005).
22. K. Verbeke, S. Ons, M. De Roo, and A. Verbruggen, *J. Nucl. Biol. Med.*, **38**, 75 (1994).
23. M. V. Pimm, S. J. Gribben, G. Mezo, and F. Hudecz, *J. Labelled Compd. Rad.*, **36**, 157 (1995).
24. M. V. Pimm, A. C. Perkins, S. J. Gribben, and F. Hudecz, *J. Nucl. Biol. Med.*, **38**, 104 (1994).
25. A. A. Bogdanov, R. J. Jr. Callahan, R. A. Wilkinson, C. Martin, J. A. Cameron, and A. J. Fischman, *et al.*, *J. Nucl. Med.*, **35**, 1880 (1994).
26. P. Olsson, A. Lindstrom, and J. Carlsson, *Int. J. Cancer*, **56**, 529 (1994).
27. D. R. Vera, A. M. Wallace, C. K. Hoh, and R. F. Mattrey, *J. Nucl. Med.*, **42**, 951 (2001).
28. J. Narula, V. P. Torchilin, A. Petrov, S. Khaw, V. S. Trubetsky, and S. M. O'Donnell, *et al.*, *J. Nucl. Cardiol.*, **2**, 26 (1995).
29. X. Wen, Q. P. Wu, Y. Lu, Z. Fan, C. Charnsangavej, and S. Wallace, *et al.*, *Bioconjug. Chem.*, **12**, 545 (2001).
30. S. Ke, X. Wen, Q. P. Wu, S. Wallace, C. Charnsangavej, and A. M. Stachowiak, *et al.*, *J. Nucl. Med.*, **45**, 108 (2004).
31. M. Liu, W. Xu, L. J. Xu, G. R. Zhong, S. L. Chen, and W. Y. Lu, *Bioconjug. Chem.*, **16**, 1126 (2005).
32. R. Haubner, H. J. Wester, W. A. Weber, C. Mang, S. I. Ziegler, and S. L. Goodman, *et al.*, *Cancer Res.*, **61**, 1781 (2001).
33. X. Chen, R. Park, A. H. Shahinian, M. Tohme, V. Khankaldyyan, and M. H. Bozorgzadeh, *et al.*, *Nucl. Med. Biol.*, **31**, 179 (2004).
34. E. G. Schutt, D. H. Klein, R. M. Mattrey, and J. G. Riess, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **42**, 3218 (2003).
35. S. Faraasen, J. Voros, G. Csucs, M. Textor, H. P. Merkle, and E. Walter, *Pharm. Res.*, **20**, 237 (2003).
36. A. L. Klivanov, *Bioconjug. Chem.*, **16**, 9 (2005).
37. M. Friedlander, P. C. Brooks, R. W. Shaffer, C. M. Kincaid, J. A. Varner, and D. A. Cheresch, *Science*, **270**, 1500 (1995).