

1 연구배경

- 티미딘(Thymidine)은 세포를 구성하는 DNA의 합성원료로 사용되는 염기 중 하나이다. 티미딘은 세포막에 위치한 티미딘 전달체를 통해 세포내로 들어가며 티미딘키나아제(Thymidine kinase 1)에 의해 티미딘 일인산(Thymidine MonoPhosphate, TMP)이 되고, 다시 티미딜산키나아제에 의해서 티미딘이인산(Thymidine Diphosphate, TDP), 티미딘삼인산(Thymidine Triphosphate, TTP)을 거쳐 DNA 폴리머라아제의 작용에 의해서 DNA 합성에 참여하게 된다. 이와 같이 티미딘은 RNA 합성에는 참여하지 않고 DNA 합성에만 참여하는 특성을 가지고 있다. 빠른 증식 속도를 가진 종양 세포는 정상세포에 비하여 더 많은 DNA 합성이 이루어짐에 따라 더 많은 양의 티미딘을 필요로 하므로 티미딘의 양을 측정하여 DNA 합성 정도를 알 수 있다. 이런 원리를 이용하여 핵의학에서는 티미딘 및 그 유사체에 방사성동위원소를 표지한 방사성의약품으로 DNA 합성을 영상화 하고 있다.
- [^{18}F]fluorothymidine([^{18}F]FLT)는 종양의 악성도와 치료반응을 조기에 예측하기 위한 목적으로 사용되는 진단용 PET 방사성의약품이다. [^{18}F]FLT를 이용한 PET 영상은 암의 진행을 효과적으로 모니터링 할 수 있는 분자영상 기법이지만, [^{18}F]FLT 및 그의 대사물질의 구별이 어려워 체내에서 동시에 일어나는 세포분열 속도나 대사변화를 정량적으로 평가하지 못하는 단점이 있다.
- 자기공명영상(Magnetic Resonance Imaging, MRI)과 자기공명분광법(Magnetic Resonance Spectroscopy, MRS)은 생체 내 물질을 정량적으로 분석 할 수 있는 영상 기법이다. MRI 에 사용되는 핵종 중 민감도가 가장 높은 원소는 ^1H (수소) 이다. ^{19}F (불소)은 MRI에서 두 번째로 높은 민감도(^1H 대비 83%)를 가지고 있으며 ^1H 와 비슷한 공명주파 영역대를 가지고 있어 기존의 ^1H 이미징 하드웨어를 사용해서 ^{19}F MRI 수행이 가능하다. 또한 생물학적으로 인체에 자연적으로 존재하지 않

으므로 백그라운드의 영향을 받지 않아 매우 높은 대조도 대 잡음비와 높은 민감도를 제공한다. 최근 고자기장 MRI의 개발로 체내의 특정효소 활동, 세포 축적과 이동, 저산소증 및 신생 혈관 반응과 같은 생화학적 변화를 ^{19}F -MRI/MRS 기법을 이용하여 정량적으로 모니터링 하는 연구가 활발하다.

2 연구내용

- 본 연구진은 ^{19}F -MRS를 이용하여 살아있는 생물에서 FLT의 대사과정을 실시간으로 모니터링하고 정량적으로 평가하는데 성공하였다.
- 또한 본 연구진은 유방암세포 (MCF-7)을 이식한 누드마우스에 모델에 FLT를 정맥주사하여 FLT가 인산화과정을 거쳐 FLT-MP로 변환되는 과정을 ^{19}F -MRS로 확인하였다. 또한, 체외평가에서 ^{19}F -NMR 및 HPLC를 이용하여 검증하는 과정을 거쳤다.

3 기대효과

- 자기공명영상기술은 방사성동위원소의 사용 없이 뛰어난 해상도의 해부학적인 영상을 제공함과 동시에 인체의 기능적 대사정보를 제공함으로써 질병의 진단에 중요한 역할을 하는 바이오이미징 기술로서, 기존 핵의학영상기술의 한계점인 대사체분석기술을 극복할 수 있을 것으로 기대된다.
- ^{19}F -MRS를 이용한 FLT 및 그 대사물의 정량화기술은 ^{19}F -MRS가 세포증식정도를 영상화하는 바이오이미징 기술로 사용될 수 있는 가능성을 입증하였을 뿐만 아니라 향후 핵의학영상기술 및 CT, 초음파, 광학영상 등의 다양한 이미징 기술과 융합하여 비침습적으로 체내의 약물 상호작용 및 다양한 동력학적 정보를 제공하는 기술로 응용될 수 있을 것으로 기대된다.

□ 연구를 시작한 계기나 배경은?

[¹⁸F]flurothymidine([¹⁸F]FLT)은 암 진단용 PET 방사성의약품으로서 종양과 같이 빠르게 분열하거나 약성도가 높은 세포에서 활성이 높게 나타난다. [¹⁸F]FLT는 체내에서 효소에 의해 인산화되어 대사물질로 [¹⁸F]FLT-monophosphate([¹⁸F]FLT-MP)를 생성하는데, PET 영상만으로는 [¹⁸F]FLT와 [¹⁸F]FLT-MP를 구분하는 데 어려움이 있음을 알고 이를 ¹⁹F 자기공명분광을 이용하여 구분해보고 싶었다. 자기공명영상은 해상도는 매우 뛰어나지만 분자영상에 있어 아주 중요한 민감도는 핵의학영상에 비해 떨어진다. 그러나 최근 들어 고자기장 마그넷의 개발과 코일의 성능향상을 통해 민감도를 높이는 노력이 이루어지고 있다. 본원에 설치되어있는 9.4T 소동물전용 MRI를 이용하여 살아 있는 생물에서 FLT의 대사과정을 실시간으로 모니터링하고 더불어 ¹⁹F-MRS 가 암을 진단하는 바이오이미징 기술로 적합한지 평가해보고 싶었다. 아울러 본 연구팀은 이중 간의 기술을 융합하여 새로운 암세포 복합영상기술을 개발하는 기반이 되고자 하였다.

□ 연구 전개 과정에 대한 소개

팬텀 실험을 통해 MRS 정량분석 데이터의 신뢰도 및 정확도를 확인하였고, 세포 실험의 NMR 및 HPLC 결과를 통해 FLT의 대사과정을 확인하였다. 이 실험들을 통해서 동물실험에서 필요한 최소농도 및 시간변수인자들을 확인한 후 최종적으로 종양을 가진 살아있는 동물모델에서 ¹⁸F-MRS를 수행하여 FLT가 FLT-MP로 대사되는 것을 확인하였다.

□ 연구하면서 어려웠던 점이나 장애요소가 있었다면 무엇인지? 어떻게 극복(해결)하였는지?

MRI 기기를 판매한 업체에서 MR사업부를 없애는 일이 발생하여, 신호 획득에서 발생하는 하드웨어적인 문제점을 해결하는데 어려움이 있었고 신호 처리과정에서 필요한 소프트웨어적인 기술적 지원을 받을 수 없어 국내외 유저들 및 연구자들의 조언을 받아 문제들을 하나하나씩 풀어가야만 했다. 그러나 오히려 그런 과정들이 기기에 대한 이해 및 연구 결과의 의미를 해석하는데 도움이 된 것 같다.

□ 이번 성과, 무엇이 다른가?

[¹⁸F]FLT은 핵의학 분야에서는 아주 유명한 암 진단용 PET 조영제로 임상에서 사용 되고 있고, 생체 내 대사과정에 대한 연구가 이미 활발히 진행 된 바 있다. 그러나 FLT의 대사과정을 자기공명영상기법으로 연구한 것은 처음이다. 왜냐하면 같은 현상을 다른 관점에서 볼 수 있는 것은 융합연구 시스템이 갖추어진 곳에서나 가능한 일이며, 한국원자력의학원 방사선의학연구소 ‘RI 융합부’ 가 바로 그런 곳이기 때문이다. 즉 이번 성과는 PET에서 사용되는 의약품을 MRI 을 이용하여 새로운 관점에서 응용분야를 찾아내었다는데 의의가 있다.

□ 꼭 이루고 싶은 목표와 향후 연구계획은?

자기공명영상은 인체내 조직의 대조도가 뛰어나고 고해상도의 영상을 제공하는 기법이지만, 방사성동위원소를 사용하는 핵의학 영상에 비해 민감도가 떨어져 종종 분자영상기법으로 평가 절하되는 경향이 있었다. 그러므로 본 연구를 계기로 서로 다른 영상기술의 장점을 가져와 인체 내 발생하는 암세포의 특징들을 분석하는 연구를 지속적으로 진행할 예정이다. 이 기술은 궁극적으로 인체에서 암세포를 사멸시키는 중요한 기반기술로 보탬이 되기 위함이다.

1. 티미딘 및 티미딘 유사체

티미딘(Thymidine)은 세포를 구성하는 DNA의 합성원료로 사용되는 염기 중 하나이다. 티미딘은 세포막에 위치한 티미딘 전달체를 통해 세포내로 들어가며 티미딘키나아제(Thymidine kinase 1)에 의해 티미딘일인산(Thymidine MonoPhosphate, TMP)이 되고, 다시 티미딜산키나아제에 의해서 티미딘이인산(Thymidine Diphosphate, TDP), 티미딘삼인산(Thymidine Triphosphate, TTP)을 거쳐 DNA 폴리머라아제의 작용에 의해서 DNA 합성에 참여하게 된다. 이와 같이 티미딘은 RNA 합성에는 참여하지 않고 DNA 합성에만 참여하는 특성을 가지고 있다. 빠른 증식 속도를 가진 종양 세포는 정상세포에 비하여 더 많은 DNA 합성이 이루어짐에 따라 더 많은 양의 티미딘을 필요로 하므로 티미딘의 양을 측정하여 DNA 합성 정도를 알 수 있다. 이런 원리를 이용하여 핵의학에서는 티미딘 및 그 유사체에 방사성동위원소를 표지한 방사성의약품으로 DNA 합성을 영상화하고 있다.

2. 자기공명영상(MRI) 및 자기공명분광법(MRS)

자기공명영상은 핵의 스핀(spin)이 자기장내에서 일으키는 공명현상을 이용하여 영상을 얻는 기술로서 안정성이 높고 영상의 해상도가 좋다. 또한 연부조직의 영상 대조도가 우수하여 임상에서 질병의 진단을 위한 중요한 영상 기법이다.

자기공명분광법은 비침습적으로 생체검사(biopsy)를 시행하지 않고 인체 내의 대사물질들을 식별하고 정량분석이 가능한 분석법이다. MRS 결과로 나타난 스펙트럼은 정상조직과 병변조직 간에 서로 다른 대사물질의 화학적인 구조를 구별하는데 사용되고 이 정보를 질병의 진단에 이용하게 된다. 원자핵은 라모 방정식에 의해 주어진 주파수에서 공명하므로, 혼합 물질은 각각의 물질마다 다른 화학구조를 가지고 있기 때문에 다른 공명주파를 갖게 되어 고유한 위치에서 각각의 피크를 확인 할 수 있다

3. ^{19}F -MRI/MRS

^{19}F 의 스핀수는 1/2 을 가지고 있어 핵자기 공명 반응을 나타내며 NMR 및 MRI에서 사용된다. MRI에 사용되는 원소 중 가장 민감도가 높은 것은 ^1H (수소)이고, ^{19}F (불소)의 민감도는 ^1H 의 83% 정도로 MRI에서 두 번째로 높은 민감도를 가지고 있다. 또한, ^{19}F 는 ^1H 와 비슷한 공명주파수 영역을 가지고 있어 기존의 ^1H 이미징 하드웨어를 사용해서 ^{19}F -MRI 수행이 가능한 장점이 있다. ^{19}F 는 인체에 자연적으로는 존재하지 않는 원소로 백그라운드 신호가 없어 높은 신호 대 백그라운드를 나타낸다. 현재 ^{19}F 표지 화합물은 치료용 면역세포의 추적, 폐 영상 및 약물 개발 등 다양하게 이용되고 있다.

4

그림 설명

^{19}F -MRS를 이용한 FLT 의 생체내 대사물 분석 연구

그림 A. 티미딘은 세포막에 위치한 티미딘 전달체를 통해 세포내로 들어가며 티미딘키나아제(Thymidine kinase 1)에 의해 티미딘일인산(Thymidine MonoPhosphate, TMP)이 되고, 다시 티미딜산키나아제에 의해서 티미딘이인산(Thymidine Diphosphate, TDP), 티미딘삼인산(Thymidine Triphosphate, TTP)을 거쳐 DNA 폴리머라아제의 작용에 의해서 DNA 합성에 참여하게 된다. 빠른 증식 속도를 가진 종양 세포는 정상세포에 비하여 더 많은 DNA 합성이 이루어짐에 따라 더 많은 양의 티미딘을 필요로 하므로 티미딘의 양을 측정하여 DNA 합성 정도를 알 수 있다. F가 표지된 3'-deoxy-3'-fluorothymidine(FLT)는 티미딘의 3-위치 OH기가 F로 치환된 구조로서 티미딘과 동일하게 세포막에 위치한 티미딘 전달체를 통해 세포내로 들어가서 티미딘키나아제에 의해 FLT-monophosphate(FLT-MP) 가 되고, 다시 티미딘산키나아제에 의해서 FLT-diphosphate(FLT-DP), FLT-triphosphate(FLT-TP)로 대사가 되지만 더 이상 대사되지 않고 세포내에서 머물게 된다.

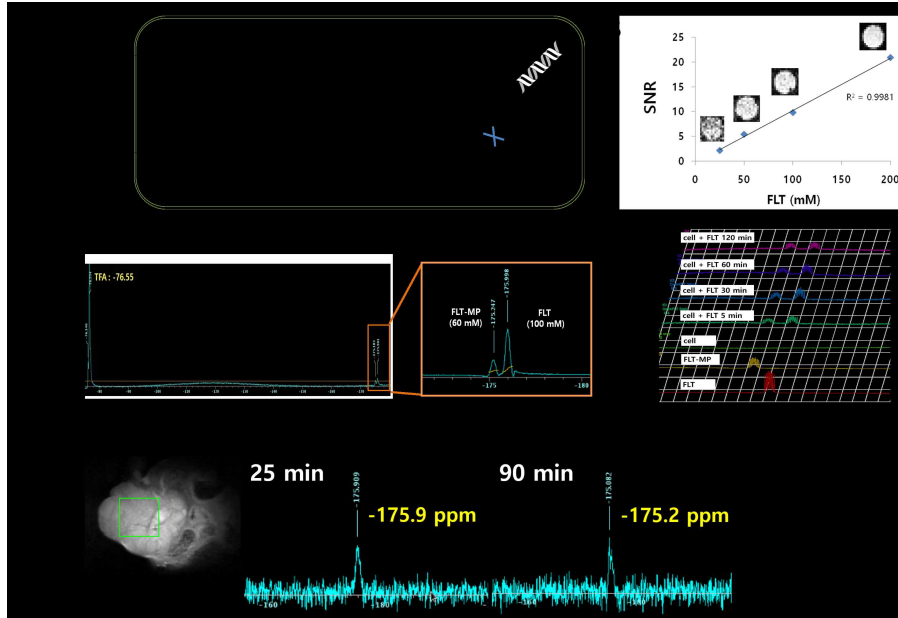
그림 B. 농도별 FLT 팬텀의 ^{19}F MRI 영상 및 SNR(Signal to noise ratio)로 측정된 신호값을 나타낸 그래프로, 농도에 따라 SNR 및 영상의 밝기가 증가하였다. ($R^2=0.9981$)

그림 C. MRS 정량분석에 대한 정확도를 평가하기 위하여, FLT (100 mM)와 FLT-MP (60 mM) 혼합 팬텀의 ^{19}F MRS 스펙트럼을 얻은 결과 -176.2 ppm와 -175.2 ppm에서 FLT와 FLT-MP의 피크 각각 나타났고, 그 면적비는 100 대 60으로 확인 되었다.

그림 D. In vitro ^{19}F NMR 결과에서, 세포는 FLT를 섭취한 후 5분 이내에 그 대사물로 FLT-MP를 생성하기 시작했고, 그 양은 시간이 지날수록 점점 증가하였다. FLT 양은 시간이 지날수록 증가 혹은 감소하였는데, 이는 FLT와 FLT-MP가 가역적으로 생성되는 것을 의미한다.

그림 E. 종양을 가진 누드마우스 꼬리 정맥으로 FLT를 주사 한 후 시간 경과에 따른 FLT-MP의 생성을 ^{19}F -MRS로 확인한 결과, 주사 후 25분의

스펙트럼은 -175.99 ppm에서 관찰되었고 주사 후 90분 스펙트럼은 -175.08 ppm에서 관찰되었는데 이는 FLT가 FLT-MP로 대사되었음을 의미한다.



참고 5 교신저자 이력사항

□ 박지애 박사

1. 인적사항

- 이 름 : 박 지 애
- 소 속 : 한국원자력의학원 방사선의학연구소
- 전 화 : 02-970-1660
- e-mail : jpark@kirams.re.kr



2. 학 력

- 2009 경북대학교 의용생체공학과 공학박사 졸업
- 2004 경북대학교 의용생체공학과 공학석사 졸업
- 1999 영남대학교 공과대학 화학공학과 학사 졸업

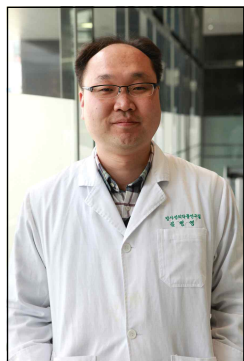
3. 경 력

- 2008-현 재 한국원자력의학원 방사선의학연구소 선임연구원
- 2015-현 재 서울과학기술대학교 시간강사
- 2011-2016 과학기술연합대학원대학교(UST) 부교수

□ 김정영 박사

1. 인적사항

- 이 름 : 김 정 영
- 소 속 : 한국원자력의학원 방사선의학연구소
- 전 화 : 02-970-1624
- 휴대폰 : 010-9073-8387
- e-mail : jykim@kirams.re.kr



2. 학 력

- 2011 한국외국어대학교 화학과 박사 졸업
- 2002 한국외국어대학교 화학과 석사 졸업
- 2000 한국외국어대학교 화학과 학사 졸업

3. 경 력

- 2006-현재 한국원자력의학원 방사선의학연구소 선임연구원
- 2004-2006 화순전남대학교병원 핵의학과 연구원
- 2002-2004 서울아산병원 핵의학과 연구원

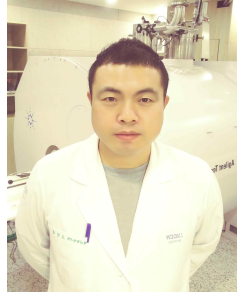
5. 주요 연구논문 (인용횟수 및 중요성을 고려하여 5편 선별)

- **Park J-A**, Lee YJ, Lee JW, Yoo RJ, Shin UC, Lee KC, Kim BI, Kim KM, **Kim JY**.
Evaluation of [89Zr]-Oxalate as a PET Tracer in Inflammation, Tumor, and Rheumatoid Arthritis Model.
Mol. Pharmaceuticals. 13:2571-2577, 2016
- Lee JW, Lee YJ, Shin UC, Kim SW, Kim BI, Lee KC, **Kim JY**, **Park J-A**.
Improved Pharmacokinetics Following PEGylation and Dimerization of a c(RGD-ACH-K) Conjugate Used for Tumor Positron Emission Tomography Imaging
Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals 31(8):295-301, 2016
- **Park J-A**, Lee YJ, Ko IO, Kim T-J, Chang Y, Lim SM, Kim KM, **Kim JY**.
Improved tumor-targeting MRI contrast agents: Gd(DOTA) conjugates of a cycloalkane-based RGD peptide
BBRC 455:246-250, 2014 (7회인용)
- **Park J-A**, Lee YJ, Lee JW, Lee KC, An GI, Kim KM, Kim BI, Kim T-J, **Kim JY**.
Cyclic RGD Peptides Incorporating Cycloalkanes: Synthesis and Evaluation as PET Radiotracers for Tumor Imaging
ACS Med, Chem. Lett 5:979-982, 2014 (9회 인용).
- **Park J-A**, **Kim JY**.
Recent Advances in Radiopharmaceutical Application of Matched-Pair Radiometals.
Current Topics in Medicinal Chemistry. 13:458-469, 2013(13회 인용).

고인옥 연구원 [제1저자] 이력사항

1. 인적사항

- 이 름 : 고 인 옥
- 소 속 : 한국원자력학회 방사선의학연구소
- 전 화 : 02-970-1667
- e-mail : inogi99@kirams.re.kr



2. 학력

- 2006 한서대학교, 방사선학과, 학사졸업
- 2017 서울과학기술대학교, 의공학-바이오소재 융합협동과정, 석사졸업

3. 전문분야정보

- MRI 및 핵의학영상 연구