



분자영상을 위한 다기능성 나노입자

Multifunctional Nanoparticles for Molecular Imaging

강 은 아 · 김 광 명 · 권 익 찬 | 한국과학기술연구원 의학연구센터 | Eunah Kang, Ph.D · Kwangmeyung Kim, Ph.D · Ick Chan Kwon, Ph.D
 Biomedical Research Center, Korea Institute of Science & Technology
 E-mail : ekang@kist.re.kr · kim@kist.re.kr · ikwon@kist.re.kr

J Korean Med Assoc 2009; 52(2): 125 - 134

Abstract

Molecular imaging is a bioimaging that can detect biochemically and genetically relevant events in molecular level in cells and tissues via quantitative imaging signal. Molecular imaging provides potential advantages to examine early diagnosis of specific diseases, to screen new candidates of a drug, to monitor therapeutic effects in real time, and to communicate with both diagnosis and therapeutics. These diverse advantages of molecular imaging can be allowed by development of nanoplatform technology. The nanoplatform-based probes for molecular imaging is widely investigated to grant multimodal molecular imaging and drug delivery together with medical imagings, which includes the issues of biocompatibility, targeting moiety, protease-specific peptide substrate, quenching/dequenching system etc. In this paper, nanoplatform-based probes are reviewed in aspects of cancer targeting for diagnosis and therapy and multimodal molecular imaging with inorganic/organic hybrid nanoparticles.

Keywords: Bioimaging; Multimodality; Nanoparticles; Activatable; Targeting; Biodistribution
 핵심 용어: 바이오이미징; 나노입자; 활성화; 표적; 생체분포; 다중영상

서론

Magnetic Resonance Imaging (MRI), Positron Emission Tomography (PET), Computed Tomography (CT), Ultrasound (US) 등의 영상의학은 의료 기술의 발전과 더불어 질병 진단의 정확도와 그 편리성을 높이는 데 기여해 왔다. 영상의학은 주로 해부학적 형태 변화 및 기능학적 정보를 영상화하고 이를 바탕으로 질병 진단에 이용되어 왔다. 그러나 최근 영상의학은 나노 기술과 결합된 분자영상을 바탕으로 세포 내에서 발생하는 분자 수준의 기전 변화, 유전자의 발현, 생화학적 생물학적 변화를 영상신호로 발현함으로써 질병을 정량적으로 영상화하는 기술로 발전

되어 왔다. 질병의 초기 발생시 부터 생화학적 분자 수준의 변화를 영상화하는 것은 질병의 원인을 규명하여 질병을 조기 진단하는 것을 도울 뿐만 아니라 질병 치료를 위한 신약 개발을 위해서도 중요한 기술을 제공할 수 있다. 또한 분자영상의 한 장점은 생체 내 분자 생물학적인 변화의 발현을 생체 내 표적 위치, 기간, 진행 정도를 조직검사 없이 한 개체 내에서 반복적 투여함으로써 시간에 따른 신호 발현의 차이를 비침습적으로 영상화가 가능하다는 점이다. 따라서 세포 내 생화학적, 분자 생물학적 변화를 표시하고 추적하는 분자영상을 위한 다양한 조영제의 개발이 중요하다.

분자영상은 나노입자 기술과 관계가 밀접한데 이는 나노입자의 생체 내 적합성, 분자영상을 위한 생체 특이성, 생체



및 세포 내 진입에 바람직한 물리화학적 성질, 영상 기법에 따른 영상 물질 부여를 위한 화학적 개질 등 나노입자 디자인에 따른 다양한 성질의 변화가 가능하기 때문이다. 생체 적합 물질로 이루어진 나노입자는 오랜 시간 혈액에서 순환할 수 있는 생체 적합성을 가지며 이로 인해 암 조직에 수동적으로 축적될 확률이 높아지기 때문에 나노입자의 크기를 조정함으로써 세포 내 진입을 최대화 할 수 있다. 또한 대부분의 나노입자 물질은 화학적 개질이 상대적으로 쉽기 때문에 생체 특이성을 가진 다키타 리간드, 항체, 펩타이드를 이용해 표적 기능을 향상시킬 수 있다.

최근 나노입자 기술 발전의 결과, 다양한 재료(유기, 무기, 하이브리드)로 이루어진 나노입자의 제조가 이뤄지고 있으며 나노입자의 생체 적합성 및 특이성, 진단 동시 치료 나노입자 등 연구 성과가 가시적으로 드러나고 있다. 이러한 연구 성과를 바탕으로 최근 나노입자 기술과 근적외선 형광영상을 이용한 NIRF/MRI, NIRF/PET, NIRF/CT 등의 다중 영상이 소개되고 있다. 이처럼 나노입자 기술을 이용한 다기능성 나노입자의 개발은 생체 특이 및 다중 영상을 위한 조영제 개발에 있어 밀접한 관련을 지닌다. 약물 전달체로서의 나노입자는 생체 적합성 물질로서 지난 수십년간 그 안전성이 증명되어 왔으며, 질병에 대한 특이성을 높이기 위하여 표적 지향형 약물 전달체의 개발이 진행되어 왔다. 이러한 약물 전달체의 특성이 최근 분자 영상을 위한 조영제의 개발에 이용되고 있다.

영상과학 분야에서 나노입자의 사용영역은 나노입자 조영제의 생체 적합성을 향상시키기 위한 유기/무기 및 하이브리드 나노입자로 그 영역이 확대되고 있다. 이러한 유기/무기 하이브리드 나노입자의 개발은 다중 영상 및 표적형, 생체 특이형 분자영상과 밀접한 관련이 있다. 유기/무기 하이브리드 나노입자를 이용한 분자영상의 응용이 무기 나노입자를 이용한 PET, CT, MRI 영상, 무기입자와 유기 형광체 결합을 이용한 NIRF, 펩타이드 기질의 결합과 표적성 리간드를 이용한 생체 특이적 분자영상 등 다양하게 진행되고 있다. 본문에서는 다양한 응용 및 영향력을 지닌 분자영상을 위한 다기능성 나노입자를 이해하고 그 발전 방향을 논의하고자 한다.

암 영상을 위한 나노입자

암 영상을 위한 나노입자는 암 조직의 혈류 내에 더 오랫동안 머무는 enhanced permeation and retention (EPR) 효과를 이용하여 암 표적 영상을 도모한다. EPR 효과란, 체내의 암 조직의 신생혈관이 정상혈관에 비해 상대적으로 느슨한 혈관상피세포 간극을 가지며 림프조직이 덜 형성되어, 약물이나 약물 전달체가 혈관벽을 투과하여 체류하는 효과를 말한다. 이와 같은 EPR 효과를 암 표적 영상에 이용함으로써 암 세포 조직 내의 순환하는 분자의 반감기를 증가시켜 수동적 표적형으로 암 조직에 나노입자의 전달을 용이하게 할 수 있다. 또한 나노입자는 여러 역학적 경로를 통한 pinocytosis로 크기가 큰 미크론 입자보다 세포 내 진입이 용이하여 약물을 봉입하였을 경우 그 효과를 최대화할 수 있다(1). 암 조직 내 EPR 효과를 통한 나노입자의 용이한 세포내 진입은 약물 전달체계 뿐만 아니라 분자영상 영역에서 전략적으로 유용하다. 실제로 키토산 나노입자 또는 poly (lysine)와 같은 고분자를 형광체와 결합하여 빛을 조사하였을 때 발생하는 근적외선 형광영상을 생체 내에서 관찰하였다(2). 나노입자를 이용한 생체영상의 장점은 생체 내 biodistribution을 실시간으로 영상화 할 수 있다는 것이다. 생체 내 조영제의 역할을 하는 나노입자의 시간에 따른 위치와 양을 정량적으로 분석함으로써 생체 역학을 조직의 직접적 분석이 아닌 실시간 영상에 따른 시간별, 장기별 나노입자의 위치 추적에 따른 실시간 조영이 가능하다. 이러한 정량분석은 약물 전달체의 효율성 및 생체 내 축적 분포도 등의 정보를 제공함으로써 단순한 진단용 영상이 아닌 신약 개발을 위한 수단으로써도 효능을 가져다 줄 수 있다.

생체 내 영상을 위한 조영제 역할을 하기 위해서 나노입자는 고분자 물질에 의한 화학적 개질과 입자의 크기 등에 의해 결정되어지는 retention time과 cellular uptake와 같은 생체 적합성을 가져야 할 뿐만 아니라, 질병을 조기 진단할 수 있으며 비정상적 세포를 탐지하고 분자영상을 구현할 수 있는 질병 특이적 분자영상조영 기능 또한 가져야 한다. 뿐만 아니라 나노입자는 생체 내 높은 영상 신호를 위해서 신호대 잡음비가 큰 민감성 높은 조영제, 특정 질병 진단을

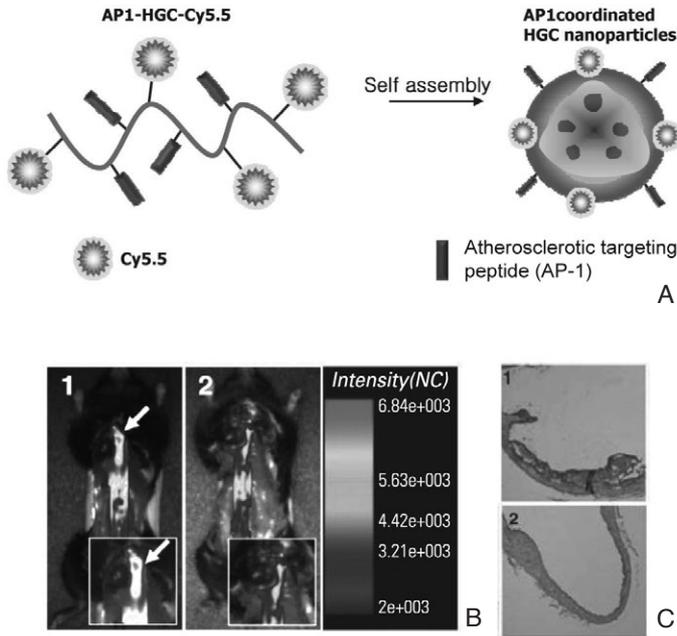


Figure 1. Hydrophobically modified chitosan (HGC) nanoparticles targeting for atherosclerosis via homing peptide, (A) Schematic picture of atherosclerotic homing peptide conjugated HGC, (B) NIR fluorescence imaging that HGCs were localized on atherosclerotic regions in vivo, (C) histological morphology of atherosclerotic region of aorta vessel. Modified with permission from Ref. 5. Copyright ©, 2008 Elsevier C.V.

위한 질병 특이성이 향상된 조영제, 표적 인자의 존재로 특정세포의 표적이 용이한 정교한 조영제로서의 효과를 보일 수 있는 특성을 지녀야 한다. 대표적 예로 약물 전달체로서 사용되어온 키토산 나노입자를 dye와 분자량과 소수성기를 화학적으로 개질함으로써 생체 내 이동과 특정 위치, 암조직 내에서의 축적을 시간에 따라 영상화함으로써 약물 전달의 효율성 및 전달 역학 등을 분석하였다. 키토산 나노입자는 친수성인 glycol chitosan을 소수성 분자인 deoxycholic acid와 화학적 개질을 통하여 결합한 후 자기조립을 통하여 안정한 나노입자를 형성한다. Park 연구 그룹은 Cy5.5 dye가 표지된 chitosan (HGC) 나노입자를 근적외선 형광영상을 통하여 분자량 및 소수성 결합기의 양에 따른 나노입자의 물리적 특성에 따른 암조직 내 축적 효과를 시간별로 정량적인 영상신호로서 분석하였다(2). 분자량의 크기에 따른 나노입자의 크기는 200~300nm로 조절되었으며 250kDa

HGC 나노입자가 암조직 내 축적률이 가장 높았다. 따라서 나노입자의 크기, 전하의 양, 나노입자의 탄성력 등의 물리적 성질이 효율적 EPR 효과를 위한 중요한 요소로 여겨진다.

나노입자의 암조직 내 친화력을 높이기 위해 표적형 인자를 나노입자와 결합하는 방법이 있다. 더 나아가 질병 특이적 표적성을 향상시키기 위해 질병 특이적 리간드를 나노입자에 결합하여 적극적으로 질병을 표적할 수 있는 나노입자의 개발이 가능하다. 표지 인자에 의한 표적성의 향상은 질병 특이적 표적성을 높이고 나노입자의 표적위치의 축적을 향상시킴으로써 표적위치에서 높은 영상 신호대 잡음비를 가져올 수 있다. 특정 질병을 위한 새로운 표적인자를 발견하기 위하여 phage display 방법을 사용하며 새로이 발견된 표적인자를 중심으로 질병을 표적하기 위한 연구가 최근 진행중이다(3, 4). Hong 연구 그룹은 phage display 방법을 이용하여 IL-4 receptor가 과밀하게 표현된 세포를 표적하는 펩타이드를 발견하였으며 atherosclerosis 및

IL-4 receptor가 과밀 표현(overexpression)된 암 등의 특정 질병을 표적하는 것을 확인하였다. Park 연구 그룹은 atherosclerosis homing 펩타이드를 키토산 나노입자에 표지하여 atherosclerosis를 비침습적 근적외선 영상으로 영상화 하는데 성공하였다(Figure 1)(5). 탐침형 표지인자는 가지고 있는 나노입자 조영제가 atherosclerosis 영역에 성공적으로 축적되어 탐침형 표지인자 없는 나노입자에 비하여 영상 신호를 증대하는데 효과적이다. 질병마다 다양한 특이적 탐침형 인자를 phage display 방법에 의하여 발견될 수 있기 때문에 탐침형 표지 인자를 결합한 특이적 나노입자 조영제의 발전이 계속될 것이다.

암 조영제로서의 나노입자는 다양한 형태가 가능한데 그중 Ghoroghchian 연구 그룹은 소수성을 지닌 poly (butadiene) 블럭과 친수성의 poly (ethylene oxide) 블럭으로 이루어진 양친성 블럭 공중합체를 이용한 vesicle 형태의

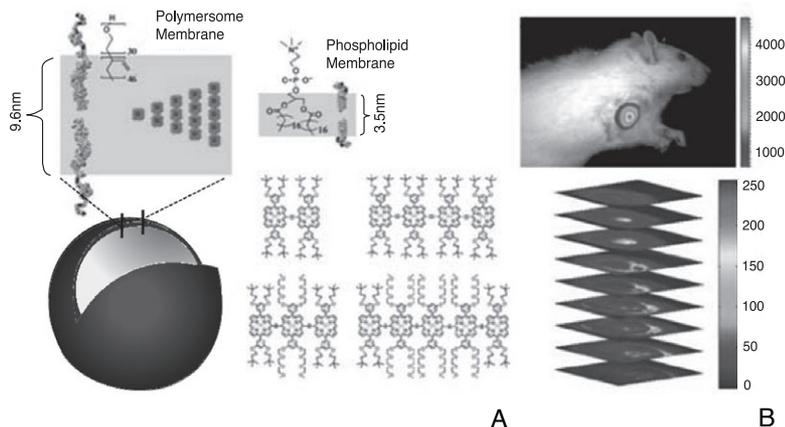


Figure 2. Nanostructure of polymersome, (A) schematic nanostructure of polymersome and dye loading within hydrophobic bilayer, (B) NIR fluorescence imaging in vivo via polymersome probe. Modified with permission from ref. 6. Copyleft 2005 PNAS.

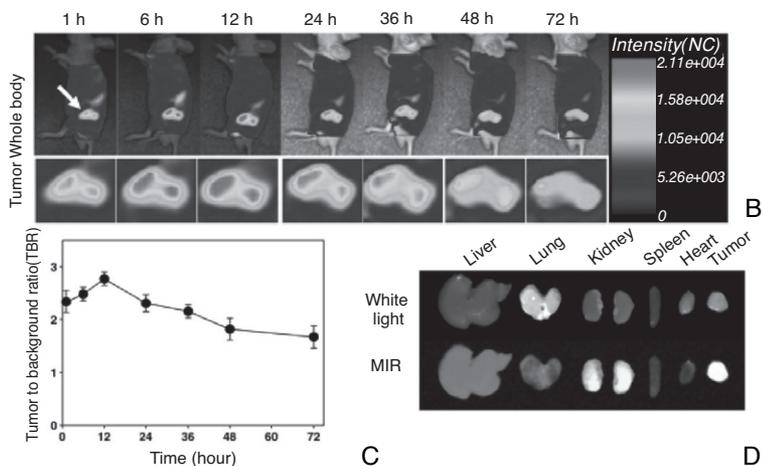
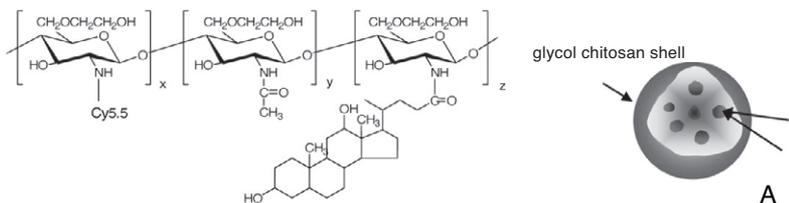


Figure 3. HGC nanoparticle for cancer imaging, (A) schematic picture of Cy 5.5 labeled HGC, (B) NIR fluorescence imaging in vivo for tumor targeting using Cy 5.5 labeled HGC nanoparticles, (C) Quantitative analysis of fluorescence signal for tumor to background signal ratio, (D) biodistribution in organs ex vivo. Modified with permission from ref. 7. Copyright © 2008 Elsevier B.V.

조영제를 연구하였다. 이 같은 양친성 블록 공중합체는 이중층 (bilayer)을 형성하여 vesicle을 이루고 소수성의 porphyrin에 기초한 근적외선 형광체가 vesicle의 소수성층에 봉입되어 polymersome이라 이름 지어진 vesicle 형태의 나노입자 조영제를 이루게 된다(Figure 2)(6). 근적외선 방출 polymersome의 경우 생체 내 투여 후 1cm 깊이까지 강한 형광을 가진 영상을 보였다. 다양한 형태의 나노입자는 그를 형성하는 물질과 형광물질의 봉입 등 디자인에 따라 분자영상을 위한 다양한 조영제로의 개발이 가능하며 또는 기능이 향상된 조영제의 개발이 가능함을 보여준다.

진단 동시 치료를 위한 다기능성 나노입자

유기 나노입자의 장점중 하나는 화학적 개질이 비교적 자유로워 나노입자에 분자영상을 위한 형광체 혹은 Radioisotope 등을 표지할 수 있는 것이다(7, 8). 형광체가 표지된 나노입자는 본래 전통적인 기능인 약물전달체로서 역할과 함께 영상을 동시에 제공하는 진단 동시 치료가 가능한 다기능성 나노입자로의 개발이 가능하다. Kwon 연구 그룹은 Cy5.5 dye가 표지된 chitosan (HGC) 나노입자를 통하여 근적외선 형광영상을 하였고, Radioisotope가 표지된 나노입자를 사용하여 약물을 봉입한 후 시간에 따른 약물의 치료효과 뿐만

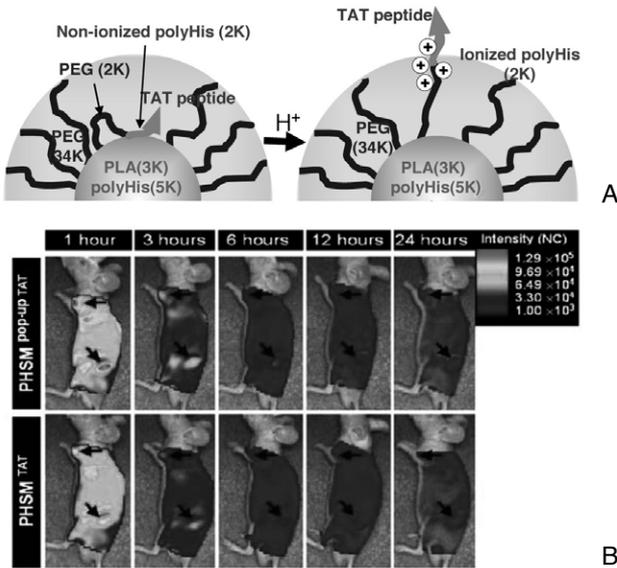


Figure 4. pH sensitive micelle with cell penetrating peptide TAT, (A) schematic picture to show the structural change of micelle at pH variance. TAT moieties are faced outward at weak acid of tumor site. (B) NIR fluorescence imaging in vivo of tumor targeting via pH sensitive micelle with TAT moieties. Modified with permission from ref. 12. Copyright © 2008 Elsevier B.V.

아니라 약물 전달체 나노입자의 생체 내 위치를 실시간으로 모니터링하여 약물의 항암 효과 및 생체 내 분포를 정량적으로 분석하였다(Figure 3)(7, 8). Doxorubicin(7), camptothecin(9), cisplatin(10) 등의 약물이 대표적인 항암 효과를 가지는 약의 예로 Cy5.5 가 표지된 HGC에 봉입되어 시간별 약물 전달체의 암 축적 효과를 정량적인 영상 신호로써 표시하였고 나노입자로부터의 약물방출에 의한 치료 효과를 함께 모니터링하여 진단과 동시에 치료가 가능한 다기능성 영상용 약물 전달체 나노입자를 개발하였다.

약물 전달체인 유기 나노입자는 나노입자의 디자인에 의해 약물전달 효과 및 생체 내 암 조직 축적을 향상시킬 수 있다. Bae 연구 그룹은 pH 민감성 고분자 마이셀의 비특이적이고 pH 민감성을 갖는 성질을 이용하여 약물전달 또는 세포 내 약물전달의 효율성을 높인 예가 있다(Figure 4)(11, 12). 이들은 pH 민감성 고분자 마이셀에 표적인자를 결합하여 암 조직 및 세포 내에서 나노입자 전달과 약물전달의 새로운 원리를 제시하였다. 새로운 세포 및 암표적 나노입자는 세포 분자막에 다양하게 분포되어 있는 수용체 체계의 암세포 heterogeneity와 생물학적 체제 등을 표적하는 pH 민감성 블록 공중합체로 구성되어 있다. 또한, poly(L-lactic acid)-b-poly(ethylene glycol)-b-poly(L-histidine)물질로 이루어진 TAT (transactivator of transcription)가 표지되어 있는 나노입자를 개발하고 doxorubicin을 봉입한 후 생체 내 혈류 내에서 순환하는 동안 생체 내 분포를 모니터링 하였다. pH 민감성 나노입자로서 혈류 내에서 순환하는 동안 TAT peptide는 나노입자 내부에 숨겨져 있으며 약산성을 띄는 암 조직 내에서 TAT 표적인자가 외부로 표출되어 쉽게 세포외 표적이 가능하여 낮은 pH에서의 internalization을 용이하게 한다. 게다가 나노입자가 Endosomal pH에서 분해가 되도록 설계되어 있어 봉입된 약물이 빠르고 정확하게 전달될 수 있다(Figure 4). 이러한 이온화 과정을 통해 세포핵에서 작용하는 doxorubicin을 3.8~8.8배 더 효율적으로 전달하였

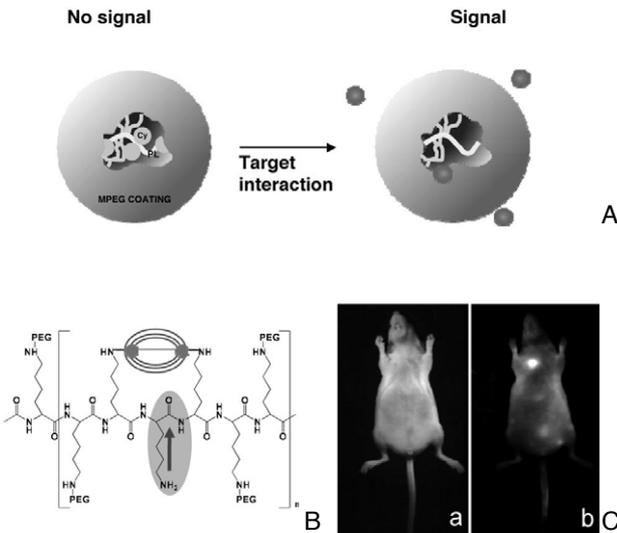


Figure 5. Protease-specific nanoparticle probe, (A) Schematic picture of poly(L-Lysine) nanoparticles, (B) Schematic picture of selective degradation of polymer main backbone by protease, (C) NIR fluorescence bioimaging that was emitted by the cleavage of lysine substrates. Modified with permission from ref. 21. Copyright 1999, Nature Publishing Group.



Table 1. Target protease and peptide substrates for specific cancers and diseases

Target protease	Disease	Peptide substrate
Cathepsin B	Breast cancer Lymph nodes Lung cancer Rheumatoid arthritis Atherosclerosis	K/K
Cathepsin D	Breast cancer	PICF/FRL
MMP-2	Fibrosarcoma	PLG/VRG
MMP-9	Myocardial infarction	SGKGPRQ/ITA
MMP-2/-9	Atherosclerosis Macrophage	GGPRQ/ITAG
MMP-7	Fibrosarcoma	GVPLS/LTMGCG
Thrombin	Cardiovascular	F(PiP)R/S
FXIIIa	Cardiovascular	NQ/EQVS
Caspase-1 Caspase-3	Apoptosis	WEHD/DEVD
Urokinase plasminogen activator (μ PA)	Cancer	GR/SANA
HIV protease DPP-IV	HSV	GV/SQNY/PIVG GP/GP

* This table was modified with permission (33).

다. 이처럼 새로운 나노입자는 표적인자의 존재 여부 뿐만 아니라 고분자 나노 전달체의 성질에 따라 그 표적의 효율성과 약물의 전달 및 진단 영상의 효율성을 극대화시킬 수 있다는 장점을 가지고 있다.

생체 내 분자 특이적 영상을 나노입자

분자영상은 좁은 의미에서 분자 수준에서 진행되는 생화학학적 변화, 유전적 변화 등을 영상화 한 것을 의미한다. 이러한 분자 수준의 변화는 그 예로 세포 사멸시 분해되는 특이 효소(13), 세포 사멸시 형성되는 세포막의 특정변화(phosphatidylserine)(14), 암특이 단백질 분해 효소인 cathepsin B (15, 16), matrix metalloproteinase (MMP)-2 (17~19) 등이 있으며 이에 따른 분자 변화에 의해 활성화된 영상신호를 발현하는 나노입자 조영제가 개발되고 있다. 특정 단백질 효소의 작용에 의하여 영상신호가 발생하는 지능형 조영제는 나노입자의 디자인과 형광의 소광/탈소광 원리를 이용하였다. 일반적인 형광체 조영제를 이용한 근적외선 형광 광학 영상은 낮은 양자량(quantum yield), 광탈색

(bleaching), 비특이성 등과 같은 한계점이 존재하며 높은 신호대 잡음비를 나타내기 위하여 표적위치에서의 조영제의 농도를 증가시키는 것이 중요하다. 따라서 특정 위치의 질병을 표적하기 위한 나노입자가 개발이 이루어져 왔으나 표적형 조영제는 생체 내 혈류에서 순환하면서 정상조직에 비해 비정상조직에 축적된 나노입자의 양에 비례하여 영상 신호를 나타내는 것이므로 정상조직의 신호를 감소시키는데에는 한계가 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 지능형 활성화 나노입자 조영제를 사용하는데 그 원리는 특이적 질병위치에서만 발현하는 분자 상호작용에 따라 나노입자 조영제의 물리적 성질이 변화함으로써 질병특이적으로 분자영상을 얻을 수 있다. 지능형 조영제는 정상조직에서는 비활성화된 소광 상태를 유지하여 질병의 표적위치에서만 활성화된 나노입자에 의하여 형광체의 신호를 발하므로 높은 신호비잡음비를 가져 표적세포 및 조직에서의 형광강도가 상대적으로 강하게 나타나므로 이를 통해 보다 명확한 진단을 할 수 있다. 이러한 지능형 형광 프로브들은 선형 고분자 (20), 펩타이드(19), 골드 나노입자(18) 등 그 형태가 다양하다.

고분자에 기초한 프로테아제 활성화 프로브가 질병 부위의 표적 효소와 반응하기 위해서는 혈관을 따라 이동되어 질병부위의 조직 내로 확산해야 하며 이를 위해서는 혈중에서 오랫동안 순환할 수 있는 나노입자들로 이루어진 프로브가 바람직하다. 1999년 Weissleder 연구팀은 최초로 효소에 의해 고분자의 주사슬이 분해되는 구조를 가진 활성화 프로브를 소개하였다(21). Figure 5에서와 같이 Poly-L-Lysine (PLL) 주사슬에 methoxy polyethylene glycol (MPEG)이 결합된 공중합체를 만들어 혈중에서 순환이 용이한 고분자를 만들어 cathepsin B 나 trypsin과 같은 단백질 효소에 의하여 PLL의 주사슬이 분해되는 구조를 이용하여 주사슬이 분해된 후 형광체의 방출과 형광을 발산하는 활성화된 프로브를 개발하였다. 분석 결과, 활성화되지 않은 상태에 비하여 활성화 되었을 경우 12배 높은 근적외선 형광을 나타냈으며 중앙모델에서 암의 진행과 관련된 cathepsin B의 활성 정도를 이미징화할 수 있다는 가능성을 보여주었다. 이를 통해 cathepsin B가 발현하는 류마

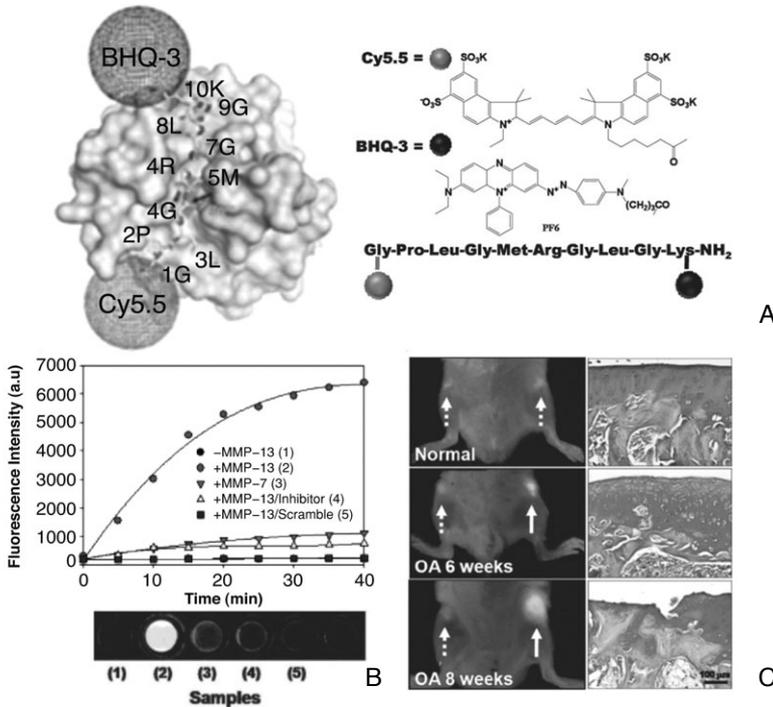


Figure 6. MMP specific peptide probes (A) Schematic picture of cleavage mechanism between MMP and MMP specific peptide substrate that was quenched by Cy5.5/BHQ system, (B) Sensitive fluorescence emission by MMP cleavage dependence in vitro characterization, (C) NIR fluorescence bioimaging that was activated by MMP in tumor site via MMP activatable probe. Modified with permission from 19. Copyright 2008, American Chemical Society.

matrix metalloproteinase-13 (MMP-13)을 표적한 골관절염(osteoarthritis, OA)의 조기 진단의 예가 있다. MMP-13은 연골(cartilage)이 분해될 때 주로 활성화 되는 효소인데 표적을 위해 MMP-13 특이적 펩타이드 기질인 GP-LGMRGLGK를 사용하였다(Figure 6) (19). 프로브에서 사용된 BHQ는 에너지를 흡수 하는 분자로서 넓은 범위의 스펙트럼에서의 형광 방출 에너지를 흡수한다. 그리하여 특정 질병 표적 프로테아제에 의해 분해된 펩타이드 형광체인 펩타이드-Cy5.5가 방출되면서 형광 영상신호를 표적 위치에서만 내게 된다. 근적외선 형광영상을 위하여 소광/탈소광 시스템인 Cy5.5/BHQ를 사용함으로써 표적질병 위치에서 펩타이드 기질 분해시 신호대 잡음비를 높여 질병 초기에 일어나는 생화학적 변화를 민감하게 측정할 수 있도록 하였다. 이러한 민감성 프로브는 조기 진단이 가능케 할 뿐 아니라 약물치료

에 따른 치료 효과를 모니터링 하는 데 효과적일 수 있다.

티스 관절염(22), 동맥경화증(15)과 같은 다른 질병의 관찰도 가능하였다. 여기서 발견되어 주사술과 근적외선 형광 사이에 단백질 효소에 의해 특이적으로 분해되는 펩타이드 사슬의 연결된 구조의 프로브를 개발하였다(23). 특이 단백질 효소별 펩타이드 기질과 표적 질병을 나열하여 Table 1에 정리하였다. 특이 단백질 효소에 따른 펩타이드 기질은 매우 다양한데 수많은 단백질 효소 작용 가운데 특정 질병에 대한 효소 활성도가 높은 펩타이드를 선택하는 것이 높은 신호대잡음비를 위해서 필수적이다. 표적 프로테아제/펩타이드 기질을 이용한 프로브의 경우, 질병 초기 발생시 활동도가 높은 프로테아제에 의하여 활성화 되는 프로브를 개발함으로써 특이 질병에 대한 민감도를 높여 질병을 초기에 발견할 수 있다. 표적 프로테아제/펩타이드 기질을 이용하여 질병 초기 진단을 위한 프로브를 개발한 예로

에 따른 치료 효과를 모니터링 하는 데 효과적일 수 있다.

다중영상을 위한 유기/무기, 하이브리드 나노입자

MRI와 CT 영상을 위해 무기 나노입자 사용은 필수적이다. 생체 내 무기 입자의 장기 순환과 생체 적합성을 위해 무기 나노입자를 친수성을 가지는 고분자로 표면개질을 하여 무기 나노입자의 집적을 방지하거나(24, 25), 무기입자 표면에 표적인자를 부여하기 위하여 단백질로 개질한 후 리간드를 부여하기도 한다(26). 무기입자에 표적인자를 부여하여 질병 특이적 친화력을 높여 분자영상을 한 예로 양자점, 자성입자 및 금나노입자가 대표적이다. 최근 유망한 무기 나노입자로서 사용되는 금나노입자는 형광에너지를 흡수하는 성질을 가진다. 이러한 성질을 이용하여 소광/탈소광 시크

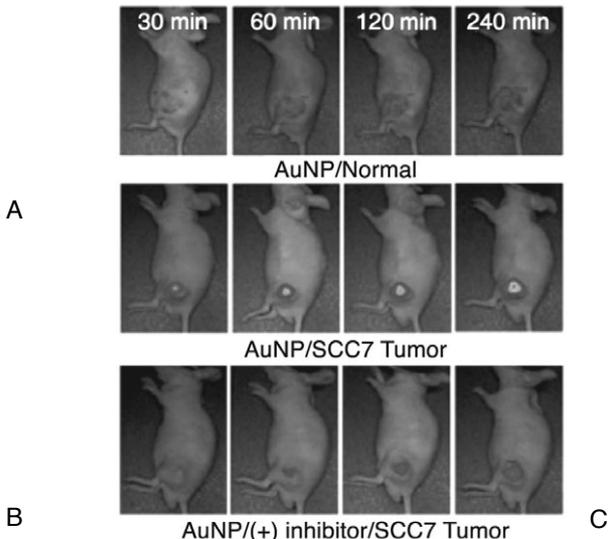
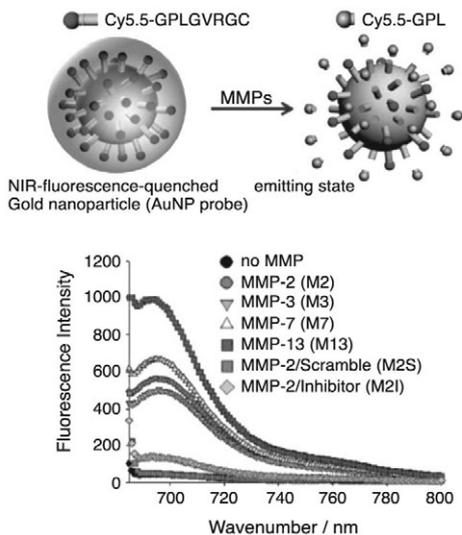


Figure 7. Inorganic MMP activatable gold nanoprobe (A) schematic picture of gold nanoprobe that is activated by cleavage of MMP specific peptide substrate, (B) in vitro characterization of MMP dependence of MMP activatable gold nanoparticles, (C) NIR fluorescence imaging, Fluorescence intensity is emitted in only tumor site by MMP cleavage of peptide substrate that was conjugated on gold nanoparticle. Quenched fluorescence probe by gold nanoparticles was emitted as Cy 5.5 was departed from gold nanoparticles. Modified with permission from ref. 18. Copyright © 2008 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.

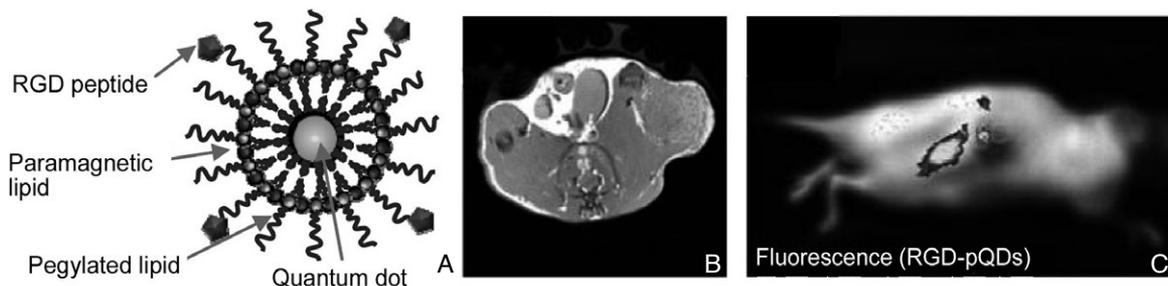


Figure 8. Multifunctional quantum dots with dual imaging modality, (A) schematic picture of multifunctional quantum dot nanoparticles with multimodality. Multifunctional nanocomplex; Paramagnetic lipid for MRI and quantum dot for fluorescence, RGD peptide for targeting, PEG for biocompatibility, (B) MRI image administered with multifunctional quantum dots, (C) Fluorescence bioluminescence imaging. Modified with permission from ref. 29. Copyright © 2008 Springer.

탐인 금나노입자/Cy5.5 프로브를 개발하였다(Figure 7) (18). 금나노입자/Cy5.5 프로브의 경우, 질병특이적 펩타이드가 암조직에서 분해되며 형광입자가 방출되는 동시에 탈소광을 하게 되어 영상신호를 발한다. 친화력을 위한 표적인자의 부여, 생체 적합성을 위한 유기고분자로의 표면 개질 등 외에도 다중영상을 위하여 무기 및 유기 물질의 하이브리드 나노입자의 개발은 불가피하다. 일반적으로 한 가지 종류의 영상 기법으로 한 질병을 완벽하게 진단하는 것은

불충분하므로 여러 영상기법을 통한 진단으로 질병의 판별력을 높이는 방법이 사용된다. 한 조영제를 사용하여 여러 영상을 얻는다면 노력과 시간면에서 경제적이며 영상과학기술을 한 차원 높일 수 있으므로 다중영상기술은 매우 중요하다고 할 수 있다. 실제적인 예로 최근 양자점(quantum dot) 낮은 bleaching, 화학적 개질과 스펙트럼 조절의 용이성으로 인하여 일반적으로 생체 내 근적외선 형광영상으로 연구되어 왔다(27). 더 나아가 자성을 포함한 지질의 화학적

개질과 양자점의 결합은 MRI/NIRF와 다중 영상이 가능한 나노입자가 개발 디자인되었다(Figure 8)(28, 29). 다중영상을 위한 양자점, 고분자 나노입자, 자성 나노입자, 탄소튜브 등이 결합된 나노입자의 개발의 여지가 많으며 MRI/PET(30), MRI/NIRF(31), MRI/PET(32) 등의 다중영상을 위한 새로운 하이브리드 나노입자의 개발이 진행중이다.

결 론

바이오이미징의 목적은 분자 수준의 질병의 특징, 진행과정, 역학을 이해하는 것으로 이를 위해서는 프로브의 합성, 실시간 영상화, 질병의 조기진단, 고감도 약물 스크린 등의 다양한 분야의 발전이 요구된다. 적절한 이미징 프로브는 바이오이미징의 중요한 수단이 되며 이는 지난 수 년간 연구 되어온 생체 적합, 생분해성, 약리학, 나노입자기술, 고분자 화학과 같은 분야가 융합된 결과이다. 나아가 발전적으로 진단과 치료가 동시 가능한 테라그노시스(theragnosis)가 생체 내 약물전달시스템을 진단과 치료를 병행하는 시스템으로 전환되는 변화가 올 수 있다. 나노입자 프로브의 개발, 테라그노시스 등의 그 응용은 아직 초기 단계이나 나노과학, 영상 과학 등의 진보는 임상 단계의 새로운 영상 및 치료법의 개발을 가까운 미래에 제공할 것이다.

참고문헌

1. Conner SD, Schmid SL. Regulated portals of entry into the cell. *Nature* 2003; 422: 37-44.
2. Park K, Kim JH, Nam YS, Lee S, Nam HY, Kim K, Park JH, Kim IS, Choi K, Kim SY, Kwon IC. Effect of polymer molecular weight on the tumor targeting characteristics of self-assembled glycol chitosan nanoparticles. *J Control Release* 2007; 122: 305-314.
3. Thapa N, Hong HY, Sangeetha P, Kim IS, Yoo J, Rhee K, Oh GT, Kwon IC, Lee BH. Identification of a peptide ligand recognizing dysfunctional endothelial cells for targeting atherosclerosis. *J Control Release* 2008; 131: 27-33.
4. Hong HY, Lee HY, Kwak W, Yoo J, Na MH, So IS, Kwon TH, Park HS, Huh S, Oh GT, Kwon IC, Kim IS, Lee BH. Phage Display Selection of Peptides that Home to Atherosclerotic Plaques: IL-4 Receptor as a Candidate Target in Atherosclerosis. *J Cell Mol Med* 2007.
5. Park K, Hong HY, Moon HJ, Lee BH, Kim IS, Kwon IC, Rhee K. A new atherosclerotic lesion probe based on hydrophobically modified chitosan nanoparticles functionalized by the atherosclerotic plaque targeted peptides. *J Control Release* 2008; 128: 217-223.
6. Ghoroghchian PP, Frail PR, Susumu K, Blessington D, Brannan AK, Bates FS, Chance B, Hammer DA, Therien MJ. Near-infrared-emissive polymersomes: self-assembled soft matter for in vivo optical imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 2922-2927.
7. Hwang HY, Kim IS, Kwon IC, Kim YH. Tumor targetability and antitumor effect of docetaxel-loaded hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles. *J Control Release* 2008; 128: 23-31.
8. Cho YW, Park SA, Han TH, Son DH, Park JS, Oh SJ, Moon DH, Cho KJ, Ahn CH, Byun Y, Kim IS, Kwon IC, Kim SY. In vivo tumor targeting and radionuclide imaging with self-assembled nanoparticles: mechanisms, key factors, and their implications. *Biomaterials* 2007; 28: 1236-1247.
9. Min KH, Park K, Kim YS, Bae SM, Lee S, Jo HG, Park RW, Kim IS, Jeong SY, Kim K, Kwon IC. Hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles-encapsulated camptothecin enhance the drug stability and tumor targeting in cancer therapy. *J Control Release* 2008; 127: 208-218.
10. Kim JH, Kim YS, Park K, Lee S, Nam HY, Min KH, Jo HG, Park JH, Choi K, Jeong SY, Park RW, Kim IS, Kim K, Kwon IC. Antitumor efficacy of cisplatin-loaded glycol chitosan nanoparticles in tumor-bearing mice. *J Control Release* 2008; 127: 41-49.
11. Yin H, Lee ES, Kim D, Lee KH, Oh KT, Bae YH. Physicochemical characteristics of pH-sensitive poly(L-histidine)-b-poly(ethylene glycol)/poly(L-lactide)-b-poly(ethylene glycol) mixed micelles. *J Control Release* 2008; 126: 130-138.
12. Lee ES, Gao Z, Kim D, Park K, Kwon IC, Bae YH. Super pH-sensitive multifunctional polymeric micelle for tumor pH (e) specific TAT exposure and multidrug resistance. *J Control Release* 2008; 129: 228-236.
13. Pham W, Pantazopoulos P, Moore A. Imaging Farnesyl Protein Transferase Using a Topologically Activated Probe. *J Am Chem Soc* 2006; 128: 11736-11737.
14. Ntziachristos V, Schellenberger EA, Ripoll J, Yessayan D, Graves E, Bogdanov A, Josephson L, Weissleder R. Visualization of antitumor treatment by means of fluorescence molecular tomography with an annexin V-Cy5.5 conjugate. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 12294-12299.
15. Jaffer FA, Kim DE, Quinti L, Tung CH, Aikawa E, Pande AN, Kohler RH, Shi GP, Libby P, Weissleder R. Optical Visualization of Cathepsin K Activity in Atherosclerosis With a Novel, Protease-Activatable Fluorescence Sensor. *Circulation* 2007; 115: 2292-2298.
16. Fischer R, Bachle D, Fotin-Mleczek M, Jung G, Kalbacher H,



- Brock R. A targeted protease substrate for a quantitative determination of protease activities in the endolysosomal pathway. *Chembiochem* 2006; 7: 1428-1434.
17. Bremer C, Tung CH, Weissleder R. In vivo molecular target assessment of matrix metalloproteinase inhibition. *Nat Med* 2001; 7: 743-748.
 18. Lee S, Cha EJ, Park K, Lee SY, Hong JK, Sun IC, Kim SY, Choi K, Kwon IC, Kim K, Ahn CH. A near-infrared-fluorescence-quenched gold-nanoparticle imaging probe for in vivo drug screening and protease activity determination. *Angew Chem Int Ed Engl* 2008; 47: 2804-2807.
 19. Lee S, Park K, Lee SY, Ryu JH, Park JW, Ahn HJ, Kwon IC, Youn IC, Kim K, Choi K. Dark quenched matrix metalloproteinase fluorogenic probe for imaging osteoarthritis development in vivo. *Bioconjug Chem* 2008; 19: 1743-1747.
 20. Lee S, Park K, Kim K, Choi K, Kwon IC. Activatable imaging probes with amplified fluorescent signals. *Chem Commun (Camb)* 2008: 4250-4260.
 21. Weissleder R, Tung CH, Mahmood U, Bogdanov A, Jr. In vivo imaging of tumors with protease-activated near-infrared fluorescent probes. *Nat Biotechnol* 1999; 17: 375-378.
 22. Wunder A, Tung CH, Muller-Ladner U, Weissleder R, Mahmood U. In vivo imaging of protease activity in arthritis: a novel approach for monitoring treatment response. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 2459-2465.
 23. Law B, Weissleder R, Tung C-H. Mechanism-Based Fluorescent Reporter for Protein Kinase A Detection. *ChemBioChem* 2005; 6: 1361-1367.
 24. Rabin O, Manuel Perez J, Grimm J, Wojtkiewicz G, Weissleder R. An X-ray computed tomography imaging agent based on long-circulating bismuth sulphide nanoparticles. *Nat Mater* 2006; 5: 118-122.
 25. Perez JM, Josephson L, O'Loughlin T, Högemann D, Weissleder R. Magnetic relaxation switches capable of sensing molecular interactions. *Nat Biotechnol* 2002; 20: 816-820.
 26. von zur Muhlen C, von Elverfeldt D, Moeller JA, Choudhury RP, Paul D, Hagemeyer CE, Olschewski M, Becker A, Neudorfer I, Bassler N, Schwarz M, Bode C, Peter K. Magnetic resonance imaging contrast agent targeted toward activated platelets allows in vivo detection of thrombosis and monitoring of thrombolysis. *Circulation* 2008; 118: 258-267.
 27. Gao X, Yang L, Petros JA, Marshall FF, Simons JW, Nie S. In vivo molecular and cellular imaging with quantum dots. *Curr Opin Biotechnol* 2005; 16: 63-72.
 28. Kamaly N, Kalber T, Ahmad A, Oliver MH, So PW, Herlihy AH, Bell JD, Jorgensen MR, Miller AD. Bimodal paramagnetic and fluorescent liposomes for cellular and tumor magnetic resonance imaging. *Bioconjug Chem* 2008; 19: 118-129.
 29. Mulder WJ, Castermans K, van Beijnum JR, Oude Egbrink MG, Chin PT, Fayad ZA, Lowik CW, Kaijzel EL, Que I, Storm G, Strijkers GJ, Griffioen AW, Nicolay K. Molecular imaging of tumor angiogenesis using alphavbeta3-integrin targeted multimodal quantum dots. *Angiogenesis* 2008.
 30. Gerstl F, Windischberger C, Mitterhauser M, Wadsak W, Holik A, Kletter K, Moser E, Kasper S, Lanzenberger R. Multimodal imaging of human early visual cortex by combining functional and molecular measurements with fMRI and PET. *Neuroimage* 2008; 41: 204-211.
 31. Choi JH, Nguyen FT, Barone PW, Heller DA, Moll AE, Patel D, Boppart SA, Strano MS. Multimodal biomedical imaging with asymmetric single-walled carbon nanotube/iron oxide nanoparticle complexes. *Nano Lett* 2007; 7: 861-867.
 32. Cheon J, Lee JH. Synergistically Integrated Nanoparticles as Multimodal Probes for Nanobiotechnology. *Acc Chem Res* 2008.
 33. Nam HY, Park JH, Kwon IC. Polymer for Bioimaging. *Polymer Sci Technol* 2008; 19: 130-137.



Peer Reviewers' Commentary

분자영상은 우리 몸의 다양한 질병에 대한 조기진단을 비롯하여 세포 내에서 발생하는 분자 수준의 변화를 영상화하는 제반 기술을 말한다. 본 논문은 최근 학계와 산업계로부터 뜨거운 관심을 받고 있는 분자영상용 다기능성 나노입자 이용에 대해 종합적으로 정리한 논문이다. 특히, 분자영상과 관련된 다양한 소재들의 특성 및 장단점을 비롯하여, 효율적이고 적합한 이미징프로브의 개발을 위해 생체 적합성, 생분해성, 약리학, 나노입자 기술, 고분자화학 같은 다양한 학문들의 연계를 강조함과 동시에 여러 기술이 융합된 다기능성 이미징프로브들을 소개하고 있다. 이와 더불어, 이런 기술들을 광학 영상, 자기공명 영상, PET, CT, 초음파 등 진단기기에 실제 활용하는 사례들을 소개하고 있다. 최근 분자 영상용 나노입자는 진단뿐 아니라 치료도 가능한 다기능성 신소재로 거듭 발전하고 있으며 향후 산업 및 경제적 파급 효과가 매우 큰 새로운 성장 산업을 창출할 가능성이 높다. 이 논문을 통하여 바이오이미징 분야의 이해를 높이며, 다양한 이미징프로브 개발을 위한 동기 부여가 가능할 것으로 기대된다.

[정리: 편집위원회]