

行政院原子能委員會
委託研究計畫研究報告

ErbB-2 乳癌標靶造影藥物細胞及動物研究
Cellular and animal studies of ErbB-2 receptor-targeting tracer

計畫編號：992001INER070

受委託機關(構)：長庚大學

計畫主持人：魏孝萍

核研所聯絡人員：廖美秀

聯絡電話：(03)-2118800 轉 5388

E-mail address：spwey@mail.cgu.edu.tw

報告日期：民國 99 年 11 月 30 日

目 錄

目 錄.....	i
中文摘要.....	1
英文摘要.....	2
壹、計畫緣起與目的.....	4
貳、研究方法與過程.....	6
一、鎂-67 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽.....	6
二、銻-111 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽.....	6
三、高效能液相層析 (HPLC) 分析鎂-67/銻-111 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜 放射化學純度.....	7
四、HER2 (+) 與 HER2 (-) 細胞株培養.....	7
五、鎂-67/銻-111 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽在 HER2 (+) 與 HER2 (-) 細 上的濃度依賴性結合實驗 (concentration -dependent cell binding assay) 8	8
六、鎂-67/銻-111 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽在 HER2 (+) 與 HER2 (-) 細 上的時間依賴性結合實驗 (time-dependent cell binding assay)	9
七、DOTA-GSG-KCCYSL 抑制鎂-67 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽在 HER2 度表現細胞之競爭結合實驗.....	10
參、主要發現與結論.....	12
肆、參考文獻.....	20

中文摘要

ErbB-2 受體與 ErbB-1、ErbB-3 及 ErbB-4 同屬 receptor tyrosine kinase 家族中的 ErbB 成員。ErbB-2 受體在許多正常器官或組織的表現不高，卻經常過度表現於臨床預後不良的上皮性腫瘤，因此成為標靶治療的對象。Herceptin 為第一個廣泛用於治療轉移性乳癌的 ErbB-2 受體標靶治療藥物，但對一些病人具有心臟毒性。與大分子抗體蛋白比較，胜肽具備較低的生物毒性、較高的靶器官對背景比值以及較快的血液廓清。本研究目標為研製會特異性結合 ErbB-2 受體的鎩-68 標幟 KCCYSL 衍生物，並以卵巢癌上皮細胞株及活體造影評估其生物特性。年度研究先以鎩-67 標幟探討放射化學及 Her2 表現細胞的結合特性。

關鍵詞：ErbB-2 乳癌標靶造影藥物，胜肽合成，胜肽分析

Abstract

ErbB-2, along with ErbB-1, ErbB-3, and ErbB-4, form the ErbB family (or subclass I) of receptor tyrosine kinases. Although ErbB-2 receptor is expressed at low levels in several normal organs and tissues, it is frequently over expressed in epithelial cancers and the overexpression is associated with poor clinical outcome. This makes ErbB-2 receptor an attractive target for the development of tumor-specific agents. Among the ligands targeting ErbB-2, Herceptin is the first such agent to reach widespread clinical use, in particular for the treatment of metastatic breast cancer. However, the drug has shown cardiotoxicity in some patients. In contrast to large molecules of antibodies, peptides exhibit less toxicity and possess better pharmacokinetic properties such as higher target-to-background ratios and faster blood clearance. This project tempts to development and characterization of a ^{68}Ga -labeled peptide-base radiotracer which may specifically bind to ErbB-2 receptors for imaging ErbB-2(+) ovary cancer. We evaluates the radiochemistry of the peptide labeled with ^{67}Ga and characterized the specific binding on Her2 expressed cells.

Key words: ErbB-2 tracer for imaging breast cancer, peptide synthesis, peptide analysis

壹、計畫緣起與目的

乳癌為婦女健康的最大威脅之一。屬於高危險群的乳癌包括：(1) 發現結節的腫瘤組織；(2) 高或中度侵犯性的表現型 (aggressive phenotype)；(3) 內分泌受體negative；(4) Her2/neu受體 positive者 [1]。

生長因子會透過 ErbB 受體開啟細胞生長與分裂之鑰。此過程的訊號傳遞先由一種生長因子結合到受體的胞外部份 (extracellular domain of receptor; ECD)，啟動後續的受體同質或異質複合 (receptor homo- or heterodimerization)、受體的胞內激酶部份 (intracellular kinase domain) 的活化，以及酪胺酸的自動磷酸化 (tyrosine autophosphorylation) [2]。

ErbB 受體家族亦即 receptor tyrosine kinases (RTKs) 的 subclass I 成員，包括 ErbB-1、ErbB-2、ErbB-3 及 ErbB-4 受體 [2]。ErbB-1 受體又稱為上皮生長因子受體 (epidermal growth factor receptor; EGFR)。ErbB-2 受體又稱為 Her2 或 neu 受體，分子量為 185 kDa。包括乳癌在內之許多惡性腫瘤的形成與 ErbB-1 與 ErbB-2 受體的異常表現有關。ErbB-2 受體在許多正常器官或組織的表現不高 [3]，卻經常過度表現於臨床預後不良的上皮性腫瘤 [4]。

由於 ErbB-2 受體已被證實會過度表現於許多人類惡性腫瘤細胞的表面，因此成為這類惡性腫瘤標靶治療的對象。在發展腫瘤標靶治療藥物的過程，科學家一直在尋找能特異性結合到 ErbB-2 受體並能進一步阻斷生長因子訊號傳遞的分子。雖然已發現一些結構類似的分子可以結合到生長因子 receptor tyrosine kinases 家族 [5, 6]，惟到目前為止，仍未發現可以直接結合到 ErbB-2 受體的自

然分子，於是科學家轉而尋找針對 ErbB-2 受體的單株抗體 [7]、疫苗 [8]、antisense 及基因治療 [9]，其中以人類抗 ErbB-2 單株抗體 Herceptin 最負盛名。

Herceptin (Genentech, Inc., San Francisco, California, USA) 為針對 ErbB-2 受體的人類單株抗體，是第一個廣泛用於治療轉移性乳癌的 ErbB-2 受體標靶治療藥物 [10, 11]，但有研究顯示 Herceptin 對一些病人具有心臟毒性 [12]。與 Herceptin 這一類大分子抗體蛋白比較，胜肽的生物毒性較低、靶器官對背景 (target-to-background) 比值較高、血液廓清 (blood clearance) 較快。拜先進的 phage display 技術之賜，許多能與受體分子、腫瘤蛋白 (oncoproteins)、integrins 以及與腫瘤有關的碳水化合物結合的胜肽紛紛從 phage display libraries 中被發掘出來 [13-17]。在尋找可能與 ErbB 受體家族結合之特殊胺基酸系列方面的進展，Ballinger 等人發現能結合 ErbB-3 受體的 heregulin 衍生胜肽 [18]；Karasseva 等人發現一些可以與重組人類 ErbB-2 受體胞外部份 (ErbB-2-ECD) 結合的胜肽，其中 KCCYSL 出現於 75% 可能與 ErbB 受體家族結合的蛋白之胺基酸系列中 [19]。

鎵-68 在核子醫學應用與 PET 造影的快速成長有密切關係。鎵-68 的物理半衰期為 68 分鐘，在 PET 造影的方便性還是優於碳-11 等短半衰期同位素 [20]。鎵-68 必須藉由鍺-68/鎵-68 發生器提供，由於鍺-68 之物理半衰期為 270 天，所以鍺-68/鎵-68 發生器的使用壽命可以長達一年或更久的時間；對於沒有迴旋加速器製造 PET 藥物的醫院而言，鍺-68/鎵-68 發生器提供另一種不需要加速器的選擇。對於沒有迴旋加速器製造 PET 藥物的醫院而言，鍺-68/

鎵-68 發生器提供另一種不需要加速器的選擇。

自 1970 年代迄今已有許多鎵-68 標幟藥物用於心臟、肝臟、腎臟及腫瘤抗藥基因的研究 [21-30]，然而，鎵-68 標幟藥物在臨床造影應用目前仍然不普遍，顯然受限於沒有足夠及普遍性的鎳-68/鎵-68 發生器供應。由於 PET 造影的成長迅速，針對不同造影需求的 PET 放射藥物的發展，近年早已凌駕甚至超越傳統核醫 SPECT 藥物的成長。PET 藥物強勢成長趨勢也同步帶動發生器型正子放射性同位素的市場開發。南非、德國、俄羅斯等國已陸續開發鎳-68/鎵-68 發生器，並將提供核醫市場使用。國內核能研究所也正進行鎳-68 鎵-68 發生器的研發。這種趨勢的發展有利於鎵-68 放射藥物的研發與應用。

本研究目標為研製會特異性結合 ErbB-2 受體的鎵-68 標幟 KCCYSL 衍生物，先以鎵-67 評估其放射化學，並以卵巢癌上皮細胞株及活體造影評估其生物特性。

貳、研究方法與過程

一、鎂-67 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽

本研究所使用的 KCCYSL 胜肽具有兩個胱胺酸 (cystine; Cys)，很容易氧化形成雙硫鍵，因此使用胜肽時必須先加入 0.1 mM 的三 (2-羧基乙基) 磷鹽酸鹽 [tris-(2-carboxyethyl) phosphine hydrochloride; TCEP] 抗氧化劑，避免兩個胱胺酸上的硫氫基 (-SH; thiol group) 因氧化形成雙硫鍵。

取 25 μ g DOTA-GSG-KCCYSL 置於一玻璃試管，加入 500 μ L 0.5 M HEPES 溶液及 250 μ l 鎂-67 氯化鎂溶液 (1.2-1.5 mCi / 0.1N HCl；核能研究所提供)，混合均勻後放入恆溫乾浴器 (heating block) 中，以 95°C 加熱 10 分鐘即完成標幟。

將反應液移入一 Waters C18 light 逆相固態萃取小管柱 (使用前依序以 1 ml 乙醇及 2 ml 注射用水活化)。小管柱先以 5 ml 注射用水流洗移除極性不純物，再以 0.5 ml 乙醇洗出放射性鎂標幟胜肽。

二、鈾-111 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽

參考 Kumar 等人於 2007 年發表文獻方法，製備鈾-111 標幟 DOTA-GSGKCCYSL，作為與鎂-67 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽比較之參考標準。

標幟反應的條件與鎂-67 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽類

似，不同之處為使用 80 μ l 0.1M 醋酸胺溶液取代 500 μ l 0.5 M HEPES 溶液；使用 15 μ l 之銥-111 氯化銥 (1.5-1.8 mCi in 0.05 N HCl) 取代同樣取代 250 μ l 鎂-67 氯化鎂溶液；反應以 85°C 加熱 60 分鐘完成。

純化銥-111 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽的方法與純化鎂-67 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽相同，使用 Waters C18 light 逆相固態萃取小管柱進行純化。

三、高效能液相層析 (HPLC) 分析鎂-67/銥-111 標幟

DOTA-GSGKCCYSL 胜肽放射化學純度

高效能液態色層分析系統包括：Empower 軟體、Waters 600 pump、Waters 2997 photodiode array 偵檢器 (波長設定為 220 nm) 及 20- μ l loop。逆相 HPLC 分析管柱為 Phenomenex Gemini 5 μ m C18 管柱 (4.6 \times 250 mm)。以兩種溶液梯度進行淘洗：溶液 A 為含 0.1 % (v/v) 三氟醋酸之水溶液，溶液 B 為含 0.1 % (v/v) 三氟醋酸之乙腈溶液；線性梯度為 20 分鐘內由 15% 溶液 A+85% 溶液 B 緩慢轉換成 40% 溶液 A+60% 溶液 B；然後在 5 分鐘內逐漸回復到 15% 溶液 A+85% 溶液 B。流速為每分鐘 1 毫升。220 nm 紫外光吸光度與放射活度分別由系統連接之紫外光光譜儀以及放射活度偵檢器 (Packard 150TR) 計讀。

四、HER2 (+) 與 HER2 (-) 細胞株培養

本研究使用三種細胞株進行鎂-67 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽的結合試驗。此三種細胞株分別為 HER2 過度表現的

MDA-MB-435S 人類乳腺癌細胞 (中正大學生命科學系分子生物研究所生物醫學研究所戴建國副教授提供) 和 SKOV-3 人類卵巢癌細胞 (林口長庚醫院放射腫瘤科實驗室王俊傑醫師提供), 以及無 HER2 表現的 HeLa 人類子宮頸癌細胞 (林口長庚醫院核子醫學科張祐銓醫師提供)。MDA-MB-435S 細胞株使用的培養液為 DMEM medium (GIBCO 11965) 含 4.5 g/L 左旋葡萄糖 (D-glucose)、左旋麩醯胺酸 (L-glutamine) 及 10% 胎牛血清 (FBS)。SKOV-3 細胞株使用的培養液為 DMEM/F-12 (1:1) medium (GIBCO 11330) 含 15 mM HEPES 緩衝液、左旋麩醯胺酸 (L-glutamine) 及 10% 胎牛血清 (FBS)。HeLa 細胞株使用的培養液為 DMEM medium (GIBCO 11965) 含 4.5 g/L 左旋葡萄糖 (D-glucose)、左旋麩醯胺酸 (L-glutamine), 及 10% 胎牛血清 (FBS)。三種細胞株都培養在 37°C、5% CO₂ 之無菌培養箱中。

五、鎳-67/鈾-111 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽在 HER2 (+) 與 HER2 (-) 細胞上的濃度依賴性結合實驗 (concentration-dependent cell binding assay)

將實驗組 [HER2 (+)] 之 MDA-MB-435S、SKOV-3 細胞以及對照組 [HER2 (-)] 之 HeLa 細胞以含有 0.05% EDTA 的胰蛋白酶 (trypsin) 切下, 以 1,000 rpm 離心 5 分鐘後, 重新懸浮在含有 1 mM TCEP 與 0.2% 牛血清蛋白 (BSA) 之漢克氏平衡鹽溶液 (HBSS) 中, 調整細胞濃度至 10⁶ cells/1 ml。

取鎂-67/鈾-111 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽溶於 HBSS 溶液中，調配濃度為 300,000 cpm/100 μ l、600,000 cpm/100 μ l、900,000 cpm/100 μ l 及 1,200,000 cpm/100 μ l。

使用 96-well DV plate (PVDF 材質、孔徑 0.65 μ m、親水性且低蛋白質結合)，將 MDA-MB-435S、SKOV-3 及 HeLa 三種細胞各分四組 (每組 8 個 wells)，在每個 well 中各加入 100 μ l 含 10^5 個細胞之 HBSS 溶液，再分別將 100 μ L 含有 300,000 cpm/100 μ l、600,000 cpm/100 μ l、900,000 cpm/100 μ l 及 1,200,000 cpm/100 μ l 之放射性標幟 DOTA-GSGKCCYSL 加入每組 well 中，使總體積為 200 μ l。將 DV plate 放進 37°C、5% CO₂ 之無菌培養箱中培養 2 小時。取出 DV plate，以 vacuum manifold 機器抽乾 well 中的液體，並用冰的 HBSS 潤洗兩次，抽乾，再將底部塑膠板拔除，把每個 well 底部的 PVDF 膜取下，以加馬活度計數器 (Wizard 1470, PerkinElmer Wallac, Turku, Finland) 讀取其放射活度。

六、鎂-67/鈾-111 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽在 HER2 (+) 與 HER2 (-) 細胞上的時間依賴性結合實驗 (time-dependent cell binding assay)

將實驗組之 MDA-MB-435S、SKOV-3 細胞以及對照組之 HeLa 細胞重新懸浮在含有 1 mM TCEP 及 0.2% BSA 之 HBSS 溶液中，調整細胞濃度至 10^6 cells/1 ml。

取鎂-67/鈾-111 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽分別溶於 HBSS 溶液中，濃度調配至 1,200,000 cpm/100 μ l。

準備四個 96-well DV plate，將 MDA-MB-435S、SKOV-3 及 HeLa 三種細胞各分四組 (每組 16 個 wells)，在每個 well 中各加入 100 μ l 含 10^5 個細胞之 HBSS 溶液，續將 100 μ l 含有 1,200,000 cpm 之放射性標幟 DOTA-GSG-KCCYSL 加入每組 well 中，使總體積為 200 μ l。將這四個 DV plate 在 37°C、5% CO₂ 之無菌培養箱中分別放置 30、60、90 及 120 分鐘。取出 DV plate，以 vacuum manifold 機器抽乾 well 中的液體，並用冰的 HBSS 潤洗兩次，抽乾，再將底部塑膠板拔除，把每個 well 底部的 PVDF 膜取下，以加馬活度計數器讀取其放射活度。

七、DOTA-GSG-KCCYSL 抑制鎂-67 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽在 HER2 過度表現細胞之競爭結合實驗

將實驗組之 MDA-MB-435S、SKOV-3 細胞以及對照組之 HeLa 細胞重新懸浮在含有 1 mM TCEP 及 0.2% BSA 之 HBSS 溶液中，調整細胞濃度至 10^6 cells/1 ml。

取鎂-67 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽溶於 HBSS 溶液中，濃度調配至 600,000 cpm/100 μ l。

使用 96-well DV plate，在每個 well 中加入 100 μ l 含有 10^5 個細胞之 HBSS 溶液，續分別加入 100 μ l 濃度為 10^{-3} M 至 10^{-12} M 之 DOTA-GSG-KCCYSL HBSS 溶液，以及 100 μ l 600,000 cpm 之

鎊-67 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽 HBSS 溶液，使總體積為 300 μ L。將 plate 置入 37°C、5% CO₂ 之無菌培養箱中培養 2 小時。取出 DV plate，以 vacuum manifold 機器抽乾 well 中的液體，並用冰的 HBSS 潤洗兩次，抽乾，再將底部塑膠板拔除，把每個 well 底部的 PVDF 膜取下，以加馬活度計數器讀取其放射活度。

參、主要發現與結論

一、鎩-67/銦-111 標幟 DOTA-GSG-KCCYSL 之放射化學

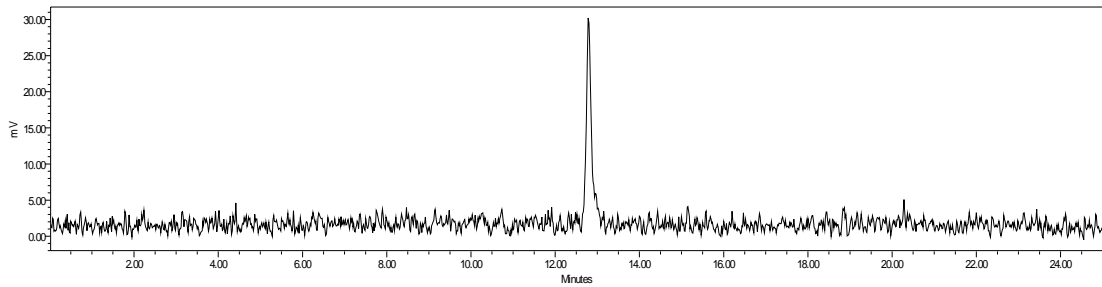
本研究以鎩-67 及銦-111 標幟 DOTA-GSG-KCCYSL 胜肽之放射化學表現綜列於表一，顯示產物的標誌效率與放射化學純度都相當好。以 HPLC 分析放射性標幟 DOTA-GSG-KCCYSL 胜肽之放射性圖譜如圖一及圖二。

表一、製備銦-111/鎩-67-DOTA-GSG-KCCYSL 胜肽之放射化學綜合表現

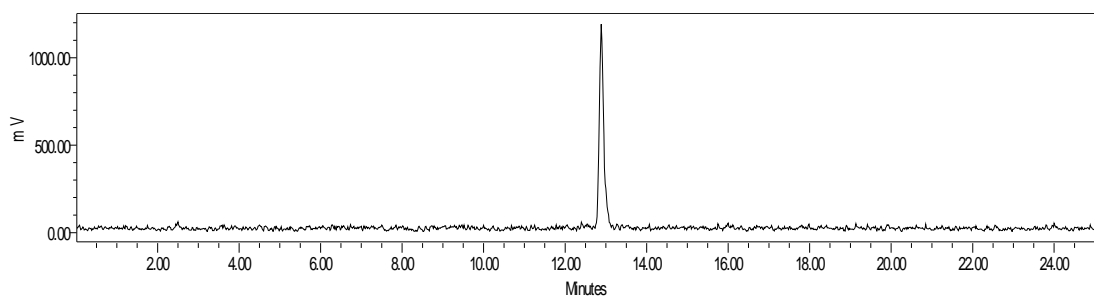
	¹¹¹ In-DOTA-Peptide	⁶⁷ Ga-DOTA-Peptide
標誌效率	97 ± 2%	92 ± 3%
沾黏於玻璃試管	1.5 ± 0.8%	19.3 ± 3.4%
層析匣回收率	77.6 ± 4.8%	54.5 ± 10.3%
放射化學純度	> 99 %	98 ± 3%

n = 3 for ¹¹¹In-DOTA-GSG-KCCYSL

n = 4 for ⁶⁷Ga-DOTA-GSG-KCCYSL



圖一、HPLC 分析銥-111-DOTA-GSG-KCCYSL 胜肽之放射性圖譜



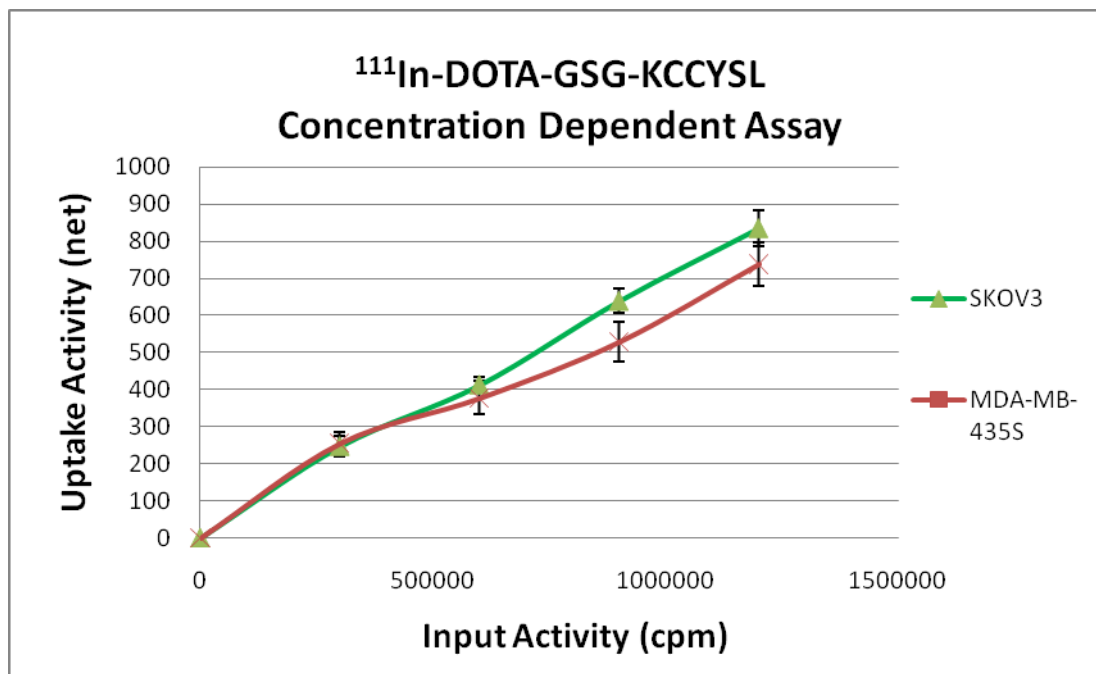
圖二、HPLC 分析鎩-67-DOTA-GSG-KCCYSL 胜肽之放射性圖譜

Gallium 必須在 GaCl_3 的形式下才能標幟上 DOTA-胜肽耦合物，所以在標幟時必須注意反應溶液的 pH 值，避免形成不可逆的 $\text{Ga}(\text{OH})_3$ ，此外也避免接觸到其他金屬離子而影響 Ga^{3+} 與 DOTA 的結合力。

自核研所取得之鎩-67- GaCl_3 溶液經測試溶液的 pH 約為 6-7，有相當比例的鎩-67 放射活度附著在玻璃瓶壁上。直接取用溶液部分的鎩-67 標幟效率不佳，因此在標幟前須將液體全部吸乾，以 0.1N 鹽酸 (HCl) 溶解附著在玻璃瓶上的鎩-67 後方可使用。

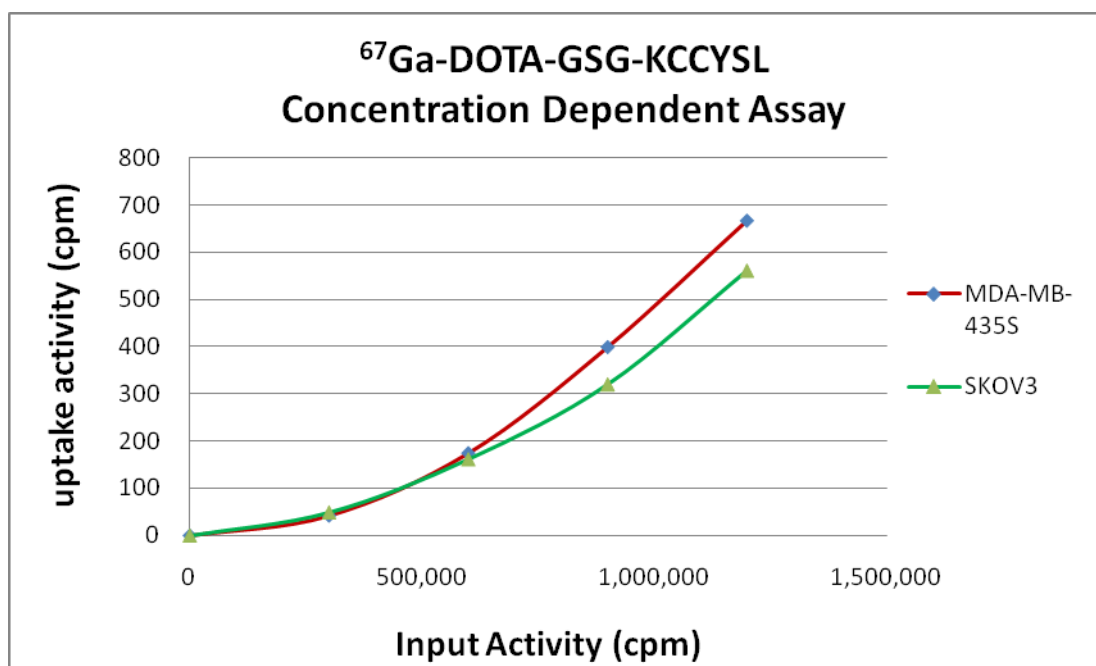
二、鎂-67/鈾-111 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽在 HER2 (+) 與 HER2 (-) 細胞上的濃度依賴性結合實驗 (concentration-dependent cell binding assay)

我們將 HER2(-)表現的 HeLa 細胞所偵測到的放射活度視為非特異性結合 (non-specific binding)。圖三及圖四為扣除 HeLa 細胞非特異性結合後，MDA-MB- 435S 及 SKOV3 細胞特異性結合放射性標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽的情形。兩種 HER2(+)表現之細胞 MDA-MB- 435S 及 SKOV3 的特異性結合活性確實隨著加入的放射性標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽濃度增加而上升。



圖三、HER2(+)表現之細胞特異性結合鈾

-111-DOTA-GSGKCCYSL 之放射性標幟胜肽濃度依賴性



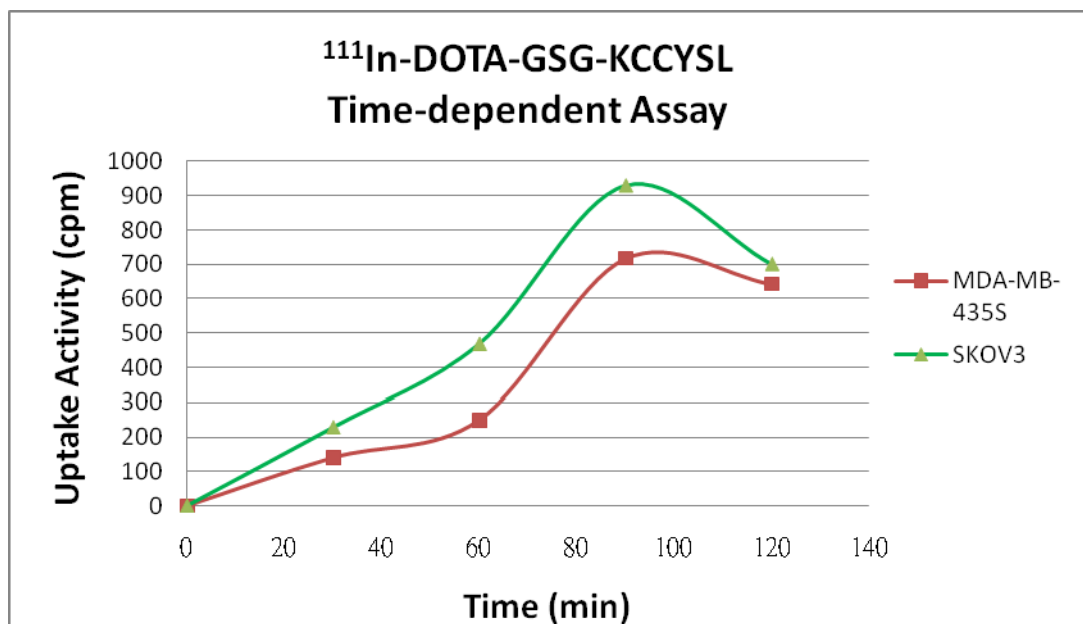
圖四、HER2(+)表現之細胞特異性結合鎳

-⁶⁷-DOTA-GSGKCCYSL 之放射性標幟胜肽濃度依賴性

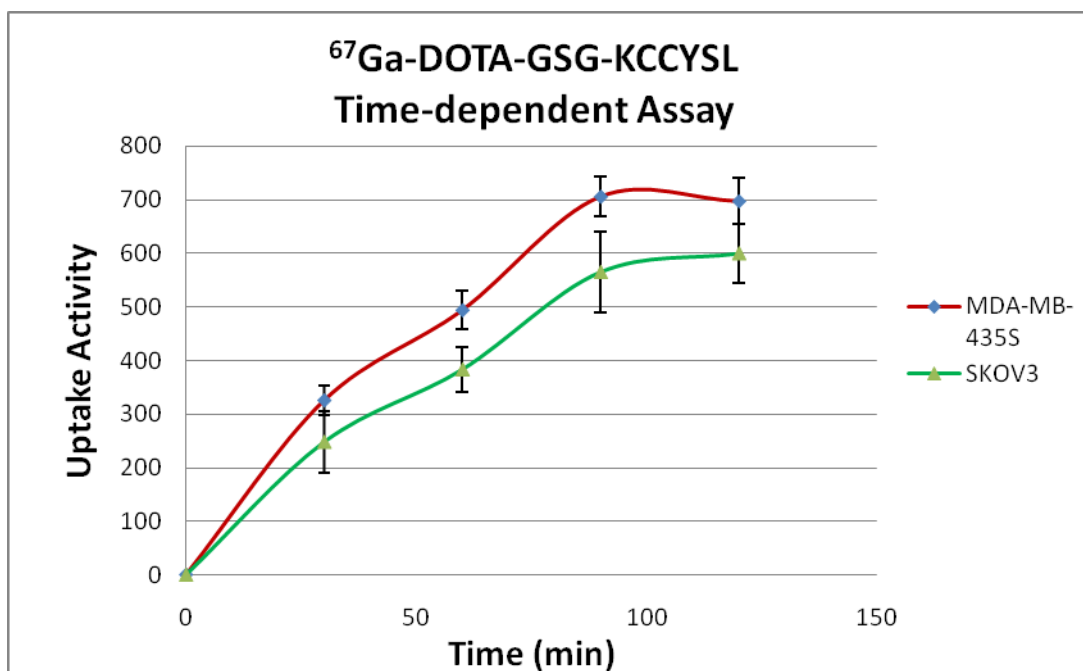
三、鎳-67/鈾-111 標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽在 HER2 (+) 與 HER2 (-) 細胞上的時間依賴性結合實驗 (time-dependent cell binding assay)

我們將 HER2(-)表現的 HeLa 細胞所偵測到的放射活度視為非特異性結合 (non-specific binding)。圖五及圖六為扣除同時間 HeLa 細胞非特異性結合後，MDA-MB- 435S 及 SKOV3 細胞特異性結合放射性標幟 DOTA-GSGKCCYSL 胜肽的情形。放射性標幟 DOTA-GSG -KCCYSL 結合上 HER2 過度表現之 MDA-MB-

435S 及 SKOV3 細胞的活度有隨時間增加而增加的現象，並在 90 分鐘左右達到結合的最大值。



圖五、HER2(+)表現之細胞特異性結合銻-111-DOTA-GSG-KCCYSL 之時間依賴性



圖六、HER2(+)表現之細胞特異性結合鎩
-⁶⁷Ga-DOTA-GSG-KCCYSL 之時間依賴性

SKOV-3 特異性結合鎩-111-DOTA-GSG-KCCYSL 較 MDA-MB-435S 高；而在鎩-⁶⁷Ga-DOTA-GSG-KCCYSL 的部分則是 MDA-MB-435S 特異性結合較高。

四、DOTA-GSG-KCCYSL 抑制鎩-⁶⁷標幟 DOTA-GSGKCCYSL

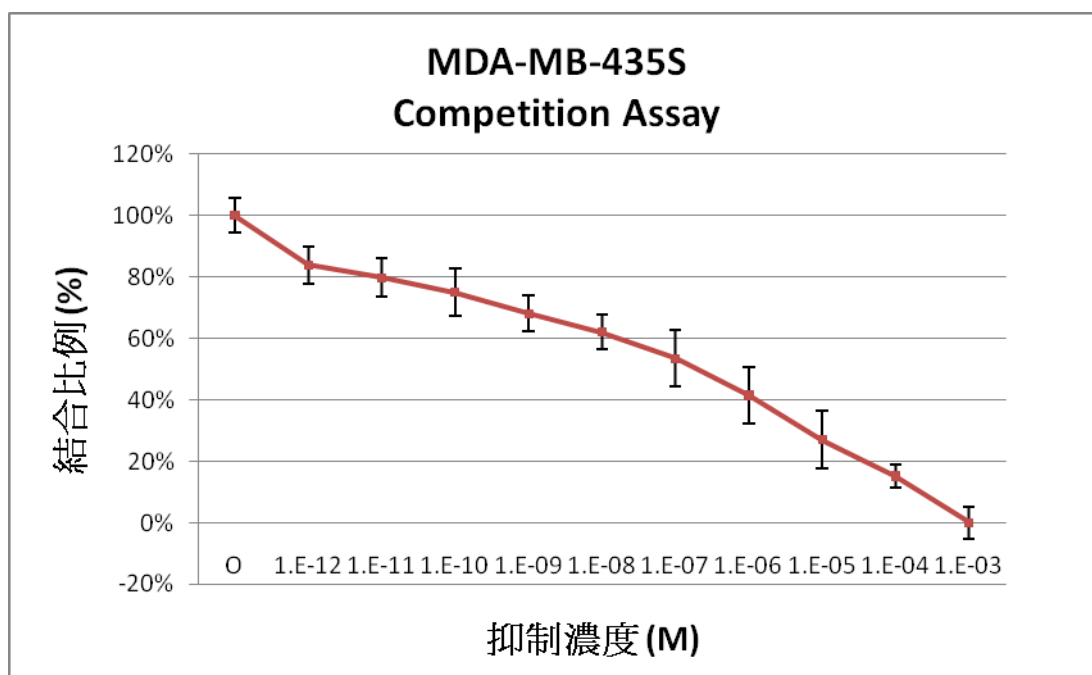
胜肽在 HER2 過度表現細胞之競爭結合實驗

本研究參考 Kumar 等人發表之文獻方法，利用非放射性 DOTA-GSG-KCCYSL 與鎩-⁶⁷Ga-DOTA-GSG-KCCYSL 進行細胞競爭結合。各組的非特異性結合 (non-specific binding) 佔 $35.4 \pm$

6.6%，特異性結合 (specific binding) 的計算如下：

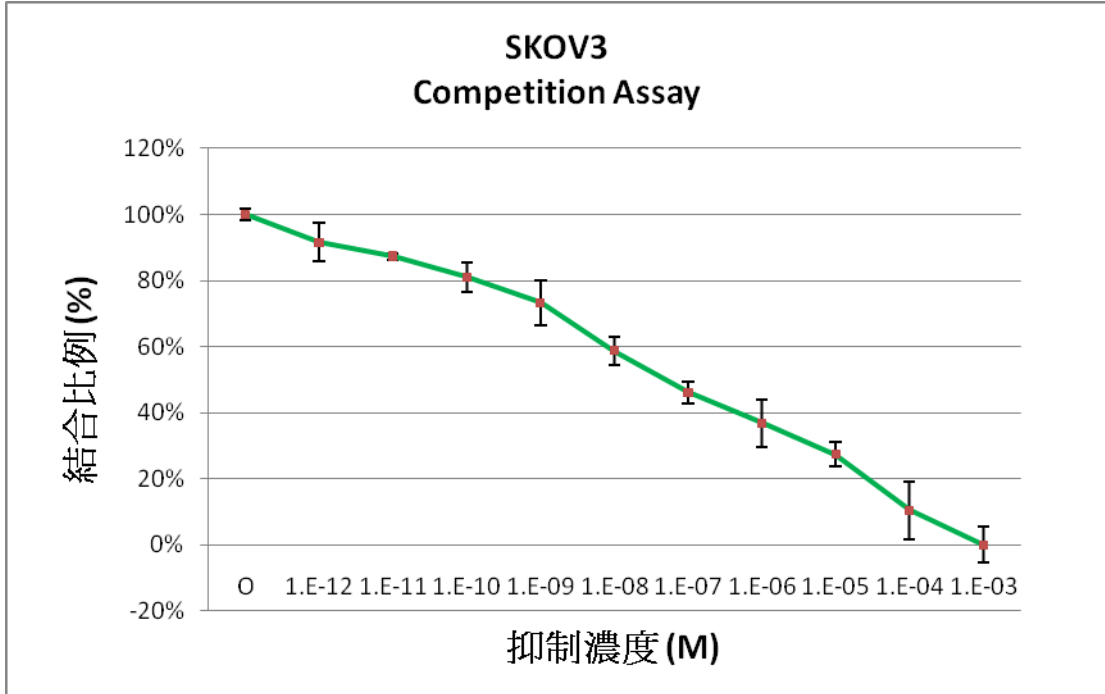
$$\frac{\text{Total binding} - \text{Nonspecific binding}}{\text{Total binding}} \times 100\%$$

HER2 過度表現之 MDA-MB-435S 與 SKOV-3 結合率隨著抑制濃度增加而減少 (圖七、圖八)，顯示 DOTA-GSG-KCCYL 的確對鎩-67-DOTA-GSG-KCCYSL 有抑制效果。圖九顯示沒有 HER2 表現之 HeLa 細胞則幾乎沒有抑制濃度改變而改變結合率的趨勢。本研究計算 MDA-MB-435S 細胞之 IC_{50} 為 4.3×10^{-8} nM，而 SKOV-3 細胞之 IC_{50} 為 6.9×10^{-8} nM，與文獻中 42.5 ± 2.76 nmol/L 的結果相近。

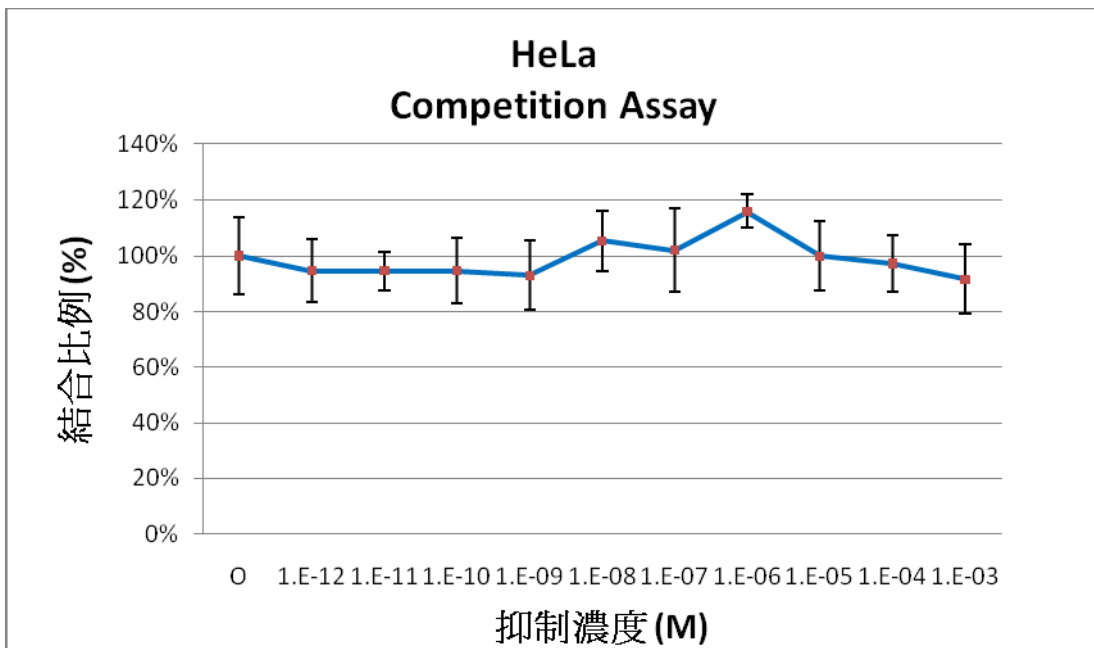


圖七、鎩-67-DOTA-GSGKCCYSL 在 MDA-MB-435S 細胞之競爭結

合



圖八、鎂-67-DOTA-GSGKCCYSL 在 SKOV-3 細胞上之競爭結合



圖九、鎔-67-DOTA-GSGKCCYSL 在 HeLa 細胞上之競爭結合

肆、參考文獻

1. Ross JS, Fletcher JA. The HER-2/neu oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor, and target for therapy. *The Oncologist* 1998; 3: 237-252.
2. McInnes C, Sykes BD. Growth factor receptors: structure, mechanism, and drug discovery. *Biopolymers* 1997; 43: 339-366.
3. DePotter CR, Van Daele S, Van de Vijver MJ, et al. The expression of the neu oncogene product in breast lesions and in normal fetal and adult human tissues. *Histopathology* 1989; 15: 351-362.
4. Ross JS, Fletcher JA. The Her-2/neu oncogene: prognostic factor, predictive factor and target for therapy. *Semin Cancer Biol* 1999; 9: 125-138.
5. Jones JT, Akita RW, Sliwkowski MX. Binding specificities and affinities of EGF domains for ErbB receptors. *FEBS Lett* 1999; 447: 227-231.
6. Taupin D, Wu DC, Jeon WK, et al. The trefoil gene family are coordinately expressed immediate-early genes: EGF receptor- and MAP kinase-dependent interregulation. *J Clin Invest* 1999; 103: R31-38.
7. Weiner LM, Clark JI, Davey M, et al. Phase I trial of 2B1, a bispecific monoclonal antibody targeting c-erbB-2 and FcγRIII. *Cancer Res* 1995; 55: 4586-493.
8. Disis ML, Grabstein KH, Sleath PR, Cheever MA. Generation of immunity to the HER-2/neu oncogenic protein in patients with

- breast and ovarian cancer using a peptide-based vaccine. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 1289-1297.
9. Harris JD, Gutierrez AA, Hurst HC, Sikora K, Lemoine NR. Gene therapy for cancer using tumour specific prodrug activation. *Gene Ther* 1994; 1: 170-175.
 10. Baselga J, Norton L, Albanell J, Kim YM, Mendelsohn J. Recombinant humanized anti-HER2 antibody (Herceptin) enhances the antitumor activity of paclitaxel and doxorubicin against HER2/neu overexpressing human breast cancer xenografts. *Cancer Res* 1998; 58: 2825-2831.
 11. Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, et al. Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J Clin Oncol* 1999; 17: 2639-2648.
 12. Seidman A, Hudis C, Pierri MK, et al. Cardiac dysfunction in the trastuzumab clinical trials experience. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1215-1221.
 13. Doorbar J, Winter G. Isolation of a peptide antagonist to the thrombin receptor using phage display. *J Mol Biol* 1994; 244: 361-369.
 14. Renschler MF, Wada HG, Fok KS, Levy R. B lymphoma cells are activated by peptide ligands of the antigen binding receptor or by anti-idiotypic antibody to induce extracellular acidification. *Cancer Res* 1995; 55: 5642-5647.
 15. Murayama O, Nishida H, Sekiguchi K. Novel peptide ligands for integrin $\alpha 6\beta 1$ selected from a phage display library. *J Biochem Tokyo* 1996; 120: 445-451.

16. Peletskaya EN, Glinsky G, Deutscher SL, Quinn TP. Identification of peptide sequences that bind the Thomsen-Friedenreich cancer-associated glycoantigen from bacteriophage display libraries. *Mol Diversity* 1996; 2: 13-18.
17. Peletskaya EN, Glinsky VV, Glinsky GV, Deutscher SL, Quinn TP. Characterization of peptides that bind the tumor-associated Thomsen-Friedenreich antigen selected from bacteriophage display libraries. *J Mol Biol* 1997; 270: 374-384.
18. Ballinger MD, Jones JT, Lofgren JA, et al. Selection of heregulin variants having higher affinity for the ErbB3 receptor by monovalent phage display. *J Biol Chem* 1998; 273: 11675-11684.
19. Karasseva NG, Glinsky VV, Chen NX, Komatireddy R, Quinn TP. Identification and characterization of peptides that bind human ErbB-2 selected from a bacteriophage display library. *J Protein Chem* 2002; 21: 287-296.
20. Breeman WAP, Verbruggen AM. The $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator has high potential, but when can we use ^{68}Ga -labelled tracers in clinical routine? *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007;34:978-981.
21. Wagner SJ, Welch MJ. Gallium-68 labeling of albumin and albumin microspheres. *J Nucl Med* 1979;20:428-433.
22. Cutler CS, Giron MC, Reichert DE, et al. Evaluation of gallium-68 tris(2-mercaptobenzyl) amine: a complex with brain and myocardial uptake. *Nucl Med Biol* 1999;26:305-316.
23. Schuster DP, Markham J, Welch MJ. Positron emission tomography measurements of pulmonary vascular permeability with Ga-68 transferrin or C-11 methylalbumin. *Crit Care Med* 1998;26:518-525.
24. Green MA, Welch MJ, Mathias CJ, Fox KA, Knabb RM,

Huffman JC. Gallium-68

1,1,1-tris(5-methoxysalicylaldiminomethyl)ethane: a potential tracer for evaluation of regional myocardial blood flow. *J Nucl Med* 1985;26:170-180.

25. Kumar B, Miller TR, Siegel BA, et al. Positron tomographic imaging of the liver: ^{68}Ga iron hydroxide colloid. *AJR Am J Roentgenol* 1981;136:685-690.
26. Mathias CJ, Lewis MR, Reichert DE, et al. Preparation of ^{66}Ga - and ^{68}Ga -labeled Ga(III)- deferoxamine-folate as potential folate-receptor-targeted PET radiopharmaceuticals. *Nucl Med Biol* 2003;30:725-731.
27. Welch MJ, Thakur ML, Coleman RE, Patel M, Siegel BA, Ter-Pogossian M. Gallium-68 labeled red cells and platelets: new agents for positron tomography. *J Nucl Med* 1977;18:558-562.
28. Sharma V, Prior JL, Belinsky MG, Kruh GD, Piwnica-Worms D. Characterization of a $^{67}\text{Ga}/^{68}\text{Ga}$ radiopharmaceutical for SPECT and PET of MDR1 P-glycoprotein transport activity in vivo: validation in multidrug-resistant tumors and at the blood-brain barrier. *J Nucl Med* 2005;46:354-364.
29. Sharma V, Beatty A, Wey SP, et al. Novel gallium(III) complexes transported by MDR1 Pglycoprotein: potential PET imaging agents for probing P glycoprotein-mediated transport activity in vivo. *Chem Biol* 2000;7:335-343.
30. Hsiao YM, Mathias CJ, Wey SP, Fanwick PE, Green MA. Synthesis and biodistribution of lipophilic and monocationic gallium radiopharmaceuticals derived from *N,N'*-bis(3-aminopropyl)-*N,N'*-dimethylethylenediamine: potential agents for PET myocardial imaging with ^{68}Ga . *Nucl Med Biol*

2009;36:39-45.